



**T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇAY (*CAMELLIA SINENSIS* (L.) O. KUNTZE) BİTKİSİ VE
TOPRAĞI İLE ETKİLEŞİMLİ, FİTOHORMON DEGRADE
EDEN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE ENZİM
AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Abdulkadir YILMAZ

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur EMİNOĞLU**

**RİZE
2025**

KABUL VE ONAY

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalında, Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur EMİNOĞLU danışmanlığında, Abdulkadir YILMAZ tarafından hazırlanan *Çay (Camellia sinensis (L.) O. Kuntze) Bitkisi ve Toprağı ile Etkileşimli, Fitohormon Degrade Eden Bakterilerin İzolasyonu ve Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi* adlı bu tez çalışması, 25/08/2025 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliğiyle/~~oy çokluğuyla~~ başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Ünvanı, Adı SOYADI

İmza

Başkan

:

Prof. Dr. Fatih Şaban BERİŞ

Üye

:

Doç. Dr. Ayşe Hümeysra TAŞKIN KAFA

Üye

:

Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur EMİNOĞLU

ETİK BEYAN

Biyoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programından mezun olmak üzere teslim ettiğim “Çay (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Bitkisi ve Toprağı ile Etkileşimli, Fitohormon Degrade Eden Bakterilerin İzolasyonu ve Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi” adlı tezim, bilim ve araştırma etiği prensiplerine riayet edilerek tarafımdan yazılmıştır.

Tez çalışmamda, başka kaynaklardan aktarılan bütün bilgi ve alıntılar, Enstitünüz Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak açıkça gösterilmiştir. Kaynağı gösterilenler dışında kalan bütün bilgiler uygun araştırma yöntemi kullanılarak tarafımdan edinilmiş ve esere bu şekilde yansıtılmıştır. Şahsıma ait olmayan hiçbir bilgi, kasıt veya kusurlar, şahsıma aitmiş gibi gösterilmemiştir. İnternet kaynakları dâhil, sahibine/kaynağına atıf yapılmaksızın hiçbir bilgi kullanılmamıştır. Aksinin ortaya çıkması halinde doğacak bütün hukuki, idari, akademik ve etik sorumluluk tarafıma ait olacaktır. Eserin tesliminden sonra herhangi bir zamanda, bilim etiğine aykırılık tespit edilmesi ve / veya eserimle ilgili intihal veya intihal şeklinde anlaşılabilecek bir durumun ortaya çıkması halinde; Üniversiteniz ve eğitim kadronuzun hiçbir şekilde sorumlu tutulmayacağını hür irademle kabul, beyan ve taahhüt ederim.

25/08/2025

Abdulkadir YILMAZ

ÖN SÖZ

Bu çalışmada, Rize ili için oldukça büyük bir ekonomik değerde olan çay bitkisi (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) ile ilişkili rhizosfer, filosfer, endofit (kök, yaprak, tohum) ve toprak örneklerinden, bitki büyüme ve savunma süreçlerinde kritik rol oynayan üç farklı fitohormon olan 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC), indol-3-asetik asit (IAA) ve salisilik asit (SA)'i parçalayabilen bakterilerin izolasyonu ve enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Tez çalışmamda öncelikle danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur EMİNOĞLU'na tüm desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Bu süreçte aileme anneme ve babama maddi ve manevi yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

“Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2024-1634” (“This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdogan University. Project Number: FYL-2024-1634”)

Abdulkadir YILMAZ
RİZE/2025

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	I
ETİK BEYAN	II
ÖN SÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
KISALTMALAR	IX
TABLolar LİSTESİ.....	X
ŞEKİLLER LİSTESİ	XI
GİRİŞ	1
1. FİTOHORMONLAR VE BİTKİ GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ROLLERİ	6
1.1. Fitohormonların Tanımı, Sınıflandırılması	6
1.1.1. Klasik Fitohormonlar ve Modern Eklemeler	7
1.2. Kimyasal Yapılar ve Biyosentetik Yolaklar	7
1.2.1. Salisilik Asit (SA) ve Bitkilerdeki Rolü	8
1.2.2. Aminosiklopropan-1-Karboksilat (ACC) ve Etilen Biyosentezi.....	11
1.2.3. İndol-3-Asetik Asit (IAA) ve Bitki Büyümesindeki Etkileri	12
1.3. Fitohormonların Mikrobiyal Degradasyonu	14
1.3.1. Bitki Gelişimini Destekleyen Rhizobakteriler: PGPR'lerin Özellikleri ve Etki Mekanizmaları	14
1.3.1.1. Bitki-Rhizosfer İlişkisi ve Mikrobiyal Aktivite.....	15
1.3.1.2. Rhizosferin Ekolojik Önemi ve Mikrobiyal Zenginliği.....	17
1.3.1.3. Rhizosfer Mikrobiyomunun Bitkilere Sağladığı Faydalar ve Köklerin Mikrobiyal Kompozisyon Üzerindeki Etkisi.....	18
1.3.2. Bitki Gelişimini Destekleyen Diğer Bakteriler (PGPB).....	20
1.3.2.1. Filosfer ve Endofitik Bakteriler	20
1.3.2.2. Toprak ve Kök Bakterileri	22
1.3.3. Fitohormonları Degrade Eden Bakteriler ve Mekanizmaları	25
1.3.3.1. Salisilik Asit Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri.....	25
1.3.3.1.1. SA Degradasyonunda Temel Metabolik Yollar ve Enzimler ..	27

1.3.3.1.2. Salisilik Asit Bozunmasını Etkileyen Çevresel Faktörler	28
1.3.4.1. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC)'ın ACC Deaminaz ile Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri.....	29
1.3.4.2. Indol Asetik Asit (IAA) Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri	32
1.3.4.2.1. IAA Degradasyonunda Temel Metabolik Yollar ve Enzimler	33
1.3.4.2.2. IAA Bozunmasını Etkileyen Çevresel Faktörler.....	35
1.3.5. Fitohormon Degradasyonu Yapan Bakterilerin Biyoteknolojik Önemi .	36
2. MATERYAL VE YÖNTEM	39
2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar, Sarf Malzemeleri ve Kitler.....	39
2.2. Çalışmada Kullanılan Besiyeri, Tampon ve Çözeltilerin Hazırlanması.....	39
2.3. Örneklerin Toplanması, Hazırlanması ve Muhafazası	40
2.4.1. Toprak Bakterileri.....	42
2.4.2. Rhizosferik Bakteriler	42
2.4.3. Kök, Yaprak ve Meyve Endofitleri.....	43
2.5. Çeşitli Bitki ve Toprak Örneklerinden Fitohormon Parçalayıcı Bakterilerin Zenginleştirilmesi ve İzolasyonu	45
2.5.1. ACC Deaminaz Aktivitesine Sahip Bakterilerin İzolasyonu.....	45
2.5.2. SA ve IAA Parçalama Aktivitesine Sahip Bakterilerin İzolasyonu.....	45
2.6. Bakteriyel Fitohormon Degradasyon Yeteneklerinin Doğrulanması	46
2.6.1. ACC Degradasyon Aktivitesi Gösteren Suşların Belirlenmesi	46
2.6.1.1. ACC Deaminaz Aktivitesinin Doğrulanması.....	47
2.6.1.2. α -Ketobutirat'tın Derivatizasyonu ve Kantifikasyonu	47
2.6.2. SA ve IAA Parçalama Aktivitesi Gösteren Suşların Tespiti	48
2.6.2.1. SA Parçalanmasının Doğrulanması	48
2.6.2.2. IAA Parçalanmasının Doğrulanması	49
2.7. 16S rRNA Sekans Analizi ile Bakterilerin Tanımlanması	49
2.7.1. PCR Ürünlerinin Temizlenmesi	49
2.7.2. Biyoinformatik Analizler.....	50
2.7.3. Elde Edilen 16S rRNA Dizilerinin NCBI GenBank'A Sunumu	51
3. BULGULAR.....	52
3.1. İzole Edilen Bakteri Sayısı ve Kaynakları	52
3.2. ACC Deaminaz Aktivitesi Gösteren İzolatlar	55

3.3. Salisilik Asit (SA) Degradasyon Aktivitesi.....	57
3.4. İndol-3-Asetik Asit (IAA) Degradasyon Aktivitesi	58
3.6. 16S rRNA Analizi ile Tür Tanımlaması	59
3.7. GenBank’a Sunulan Diziler ve Erişim Numaraları.....	63
4. SONUÇ.....	64
KAYNAKÇA	71



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Anabilim Dalı : Biyoloji
Tez Türü : Yüksek Lisans Tezi
Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ayşenur EMİNOĞLU
Hazırlayan : Abdulkadir YILMAZ
Yıl : 2025
Sayfa Sayısı : 102

ÖZET

ÇAY (*CAMELLIA SINENSIS* (L.) O. KUNTZE) BİTKİSİ VE TOPRAĞI İLE ETKİLEŞİMLİ, FİTOHORMON DEGRADE EDEN BAKTERİLERİN İZOLASYONU VE ENZİM AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Bu çalışmada, çay bitkisi (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) ile ilişkili rhizosfer, filosfer, endofit (kök, yaprak, tohum) ve toprak örneklerinden, bitki büyüme ve savunma süreçlerinde kritik rol oynayan üç farklı fitohormon olan 1-aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC), indol-3-asetik asit (IAA) ve salisilik asit (SA)'i parçalayabilen bakterilerin izolasyonu ve enzimatik aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Rize ili genelinde farklı lokasyonlardan toplanan 100'ün üzerinde izolat öncelikle biyokimyasal testlere tabi tutulmuş; ACC deaminaz, IAA ve SA degradasyon aktiviteleri taranmıştır.

Aktivite analizleri sonucunda bazı izolatların birden fazla fitohormonu parçalayabildiği belirlenmiştir. Özellikle IAA degradasyon kapasitesine sahip bazı suşların aynı zamanda ACC deaminaz aktivitesi göstermesi, çok yönlü bitki-bakteri etkileşim potansiyelini ortaya koymaktadır. Buna karşın SA degradasyon yeteneğinin yalnızca SA-pozitif grupta sınırlı kalması, bu özelliğin daha dar bir ekolojik dağılıma sahip olabileceğini düşündürmektedir. ACC deaminaz aktivitesi tespit edilen izolatlarda spesifik aktivite değerleri 0-2,58 $\mu\text{mol } \alpha\text{-KB mg}^{-1} \text{ sa}^{-1}$ aralığında bulunmuştur.

Elde edilen izolatlar arasından yüksek enzim aktivitesi gösteren temsilci suşlar seçilmiş ve 16S rRNA gen dizi analizi ile tür düzeyinde tanımlamaları yapılmıştır. Filogenetik analizler sonucunda izolatların büyük çoğunluğunun *Proteobacteria* filumuna ait olduğu saptanmıştır; bunlar arasında *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Acinetobacter* cinsleri öne çıkmıştır.

Çalışma sonucunda, çay bitkisi ile ilişkili mikrobiyal topluluklar içerisinde yüksek enzim aktivitesi gösteren, tarımsal biyoteknoloji açısından potansiyel PGPB adaylarının varlığı ortaya konmuştur. Bu suşlar, ileride yapılacak sera ve tarla denemeleriyle biyogübre ve biyokontrol uygulamalarında kullanılabilecek değerli genetik kaynaklar olarak değerlendirilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Fitohormon Katabolizması, ACC deaminaz, IAA Degradasyonu, SA Degradasyonu, Rhizosfer, Filosfer, Endofit, Toprak, *Camellia sinensis*

Recep Tayyip Erdogan University Institute of Graduate Studies

Department : Biology

Thesis Type : Master Thesis

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Ayşenur EMİNOĞLU

Author : Abdulkadir YILMAZ

Year : 2025

Pages : 102

ABSTRACT

ISOLATION OF PHYTOHORMONE-DEGRADING BACTERIA INTERACTING WITH TEA (*CAMELLIA SINENSIS* (L.) O. KUNTZE) PLANT AND SOIL, AND DETERMINATION OF THEIR ENZYME ACTIVITIES

In this study, the aim was to isolate bacteria capable of degrading three different phytohormones, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC), indole-3-acetic acid (IAA), and salicylic acid (SA), which play critical roles in plant growth and defense processes, from rhizosphere, phyllosphere, endophytic (root, leaf, seed), and soil samples associated with the tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). More than 100 isolates collected from various locations across Rize province were initially subjected to biochemical tests to screen for ACC deaminase, IAA degradation, and SA degradation activities.

Activity analyses revealed that some isolates were capable of degrading more than one phytohormone. In particular, certain IAA-degrading strains also exhibited ACC deaminase activity, indicating a multi-faceted plant-bacteria interaction potential. In contrast, the ability to degrade SA was restricted to the SA-positive group, suggesting that this trait may have a narrower ecological distribution. The specific activity values for ACC deaminase-positive isolates ranged from 0 to 2.58 $\mu\text{mol } \alpha\text{-KB mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Representative strains with high enzymatic activity were selected from the isolates, and species-level identification was performed via 16S rRNA gene sequence analysis. Phylogenetic analyses revealed that the majority of the isolates were affiliated with the phylum Proteobacteria, with *Pseudomonas*, *Burkholderia*, and *Acinetobacter* being the dominant genera.

As a result, the study demonstrated the presence of high-activity isolates among microbial communities associated with the tea plant, which can be considered potential PGPb (plant growth-promoting bacteria) candidates for agricultural biotechnology. These strains are valuable genetic resources that could be utilized in future greenhouse and field trials for biofertilizer and biocontrol applications.

Keywords: Phytohormone Catabolism, ACC deaminase, IAA Degradation, SA Degradation, Rhizosphere, Phyllosphere, Endophyte, Soil, *Camellia sinensis*

KISALTMALAR

ABA	:	Abscisik Asit (Abscisic Acid)
ACC	:	1-aminosiklopropan-1-karboksilat
ACO	:	ACC-oksidaz
ACS	:	ACC sentaz
AMF	:	Arbusküler Mikoriza Mantarları
BA	:	Benzoik asit
CK	:	Sitokininler (Cytokinins)
EPGPR	:	Hücre dışı Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler
EtOH	:	Etanol
GA	:	Gibberellik Asit (Gibberellic Acid)
IAA	:	Indol Asetik Asit
IC	:	İzokorizmat
ICS	:	Zokorizmat sentazı
ISR	:	Sistemik Direnç İndüksiyonu
IPGPR	:	Hücre içi Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler
MTA	:	50-metiltioadenosin
PAL	:	Fenilalanin Amonyak-Liyaz
PGPB	:	Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler
PGPR	:	Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler
Phe	:	Fenilalanin
PLP	:	Piridoksal-5'-fosfat
SA	:	Salisilik Asit
SAM	:	S-adenozil-L-metiyonin
SAMS	:	L-metiyonin-S-adenoziltransferaz
SAR	:	Sistemik edinilmiş direnç
SM	:	Sekonder Metabolit
TCA	:	Trans-sinamik asit
UV	:	Ultraviyole

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. Çalışmada İzole Edilen Bakterilerin Toplandığı Lokasyonlar ve Örnek Türleri	42
Tablo 2. Filogenetik ağaç yapımında kullanılan bakteri türleri ve GenBank erişim numaraları	50
Tablo 3. İzole edilen bakteri suşlarının lokasyon ve örnek türüne göre dağılımı.	54
Tablo 3(Devamı). İzole edilen bakteri suşlarının lokasyon ve örnek türüne göre dağılımı.	55



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Bitki Hormonu Salisilik Asit'in (SA) salisilat hidroksilaz ve nag yolu ile Parçalanması (Qi vd., 2018).	28
Şekil 2. Etilen biyosentez yolu ve ACC deaminaz üreten bakterilerin rolü. Bu yolda, SAM sentetaz metiyonini S-adenozil-L-metiyonin'e dönüştürür. Ardından ACC sentaz, SAM'ı ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat)'a çevirir. Bu reaksiyonda ayrıca metiltioadenozin (MTA) oluşur; MTA, bir dizi biyokimyasal reaksiyonla yeniden metiyonine dönüştürülür. Bu çok basamaklı yol, Yang döngüsü olarak da bilinir. ACC oksidaz, ACC'yi bitki hormonu etilene dönüştürür. ACC deaminaz üreten bakteriler, bitki köklerinden salgılanan ACC'yi amonyak ve α -ketobutirata hidrolize eder. PGPB (bitki gelişimini teşvik eden rhizobakteriler), stres koşullarında oluşan "stres etileni" seviyesini azaltır (Moon ve Ali, 2022).....	31
Şekil 3. <i>iac</i> ve <i>iaa</i> gen kümeleri tarafından kodlanan IAA bozunma yolları. Her iki yolda da temel metabolitler ile ana reaksiyonlar ve bunlara karşılık gelen genler gösterilmektedir. Ayrıntılar için ana metne bakınız. <i>iac</i> tarafından kodlanan yolda, yolağın işleyişindeki rolleri bilinmeyen, kanıtlanmamış veya temel olmayan genler gösterilmemiştir. <i>iac</i> ve <i>iaa</i> gen kümeleri tarafından kodlanan yolların son ürünleri sırasıyla katekol ve 2-aminobenzoyl-CoA'dır. Bu ürünler, sırasıyla <i>catABC/pcaDIJ</i> ve <i>abmABCD</i> genleri aracılığıyla merkezi metabolizmaya yönlendirilir (Laird vd., 2020).	35
Şekil 4. Örneklerin toplandığı çeşitli lokasyonlar.....	41
Şekil 5. Bitki dokularından alınan örneklerin hazırlanması.	44
Şekil 6. Çay bitkilerinden rhizosfer, kök ve doku örneklerinin saha koşullarında toplanması. Numuneler, eldiven ve steril makas/pens kullanılarak bitki kök bölgesinden (5–20 cm derinlikten) alınmış, köklere tutunan toprak dikkatlice kazınarak steril tüplere aktarılmıştır.	52
Şekil 7. Hormon içeren M9 minimal besiyeri ortamında büyütülen kültürlerin, TSA ve King B besiyerlerine ekilmesi sonucu koloni oluşumu gözlenen petriler.	53
Şekil 8. Fitohormon içeren M9 minimal besiyeri ortamında büyüme gözlenen tüpler.	54

Şekil 9. ACC deaminaz aktivitesinin ölçümünün (kalitatif) gösterimi A) ACC deaminaz aktivitesi negatif tüp. B) Yüksek ACC deaminaz aktivitesi gözlemlenen tüp.	55
Şekil 10. Farklı bakteri suşlarının ACC deaminaz aktiviteleri (ortalama $\pm$ standart sapma, $n = 3$). Aktivite değerleri, 540 nm’de ölçülen α -ketobutirat miktarının standart eğri ile hesaplanması, protein miktarına normalize edilmesi ve yarım saatlik ölçümün saatlik değere dönüştürülmesi ile elde edilmiştir. Ölçümler $\mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutirat/mg protein/saat}$ olarak ifade edilmiştir.....	56
Şekil 11. <i>α-Ketobutyrate standart eğrisi</i> . Farklı konsantrasyonlardaki α -Ketobutyrate çözeltilerinin absorbans değerleri (540 nm), doğrusal regresyon analizi ile modellenmiştir.	57
Şekil 12. 1 mM SA içeren M9 minimal besiyerinde SA degradasyon aktivitesinin UV transillüminatörde gösterimi. (A) 10–12 ve (B) 1–3 ile 10–12 numaralı kuyular, pozitif suşları içermektedir.	58
Şekil 13. Karbon kaynağı olarak 1 mM IAA içeren M9 minimal agar besiyerinde büyütülen bakterilerin IAA parçalama yeteneklerinin belirlenmesi. Pembe/kırmızı renk (negatif), Salkowski reaktifi ile parçalanmayan indol-3-asetatın kompleksleşmesini gösterir. Renk oluşmaması ise (pozitif), ortamda IAA’nın bakteriler tarafından parçalandığını göstermektedir.	59
Şekil 14. 27F/1492R evrensel primerleri kullanılarak çoğaltılan yaklaşık 1500 bp’lik 16S rRNA gen bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü. İlk kuyda (sol baş) 100 bp (GeneRuler, SM0241, Thermo Scientific) DNA standardı yer almaktadır.....	60
Şekil 15. Çay bitkisi ile ilişkili bakteri izolatlarının 16S rRNA gen dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç.	62

GİRİŞ

Fitohormonlar, bitki yaşamının tüm süreçlerini düzenleyen, yapısal olarak çeşitli, düşük moleküllü organik maddelerden oluşan bir gruptur. Bitkilerle etkileşime giren birçok mikroorganizmanın fitohormon sentezleme yeteneğine sahip olduğu iyi bilinmektedir. Ancak faydalı ve patojen pek çok mikroorganizma da, bitkilerdeki fitohormonları yok edip dönüştürebilir, konsantrasyonlarını etkileyebilir ve besin olarak kullanabilirler. Başlıca fitohormon grupları arasında oksinler, gibberellinler (GA), sitokininler, absisik asit (ABA), etilen (ET), salisilik asit (SA) ve jasmonatlar (JA) bulunur. Bitkilerle etkileşime giren birçok mikroorganizma aynı zamanda fitohormon sentezleme yeteneğine de sahiptir ancak bir grup faydalı ve patojen mikroorganizma, fitohormonları sentezlemenin yanı sıra bunların yok edilmesi, dönüştürülmesi ve bu maddelerin besin kaynağı olarak kullanılması yoluyla çevredeki ve bitkilerdeki içeriğini de belirleyebilmektedirler (Syrova vd. ,2022).

Bitki büyümesi ve gelişimi, fitohormon biyosentezi ve sinyal iletimi gibi iç ipuçları tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir. Fitohormonlar sadece bitki gelişimini ve stres tepkilerini düzenlemekle kalmaz, aynı zamanda çeşitli sınırlayıcı koşullar altında bitki büyümesini destekleyen simbiyontlar (rhizobia) ve diğer bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB) ile faydalı etkileşimler dahil olmak üzere bitki mikrobiyom düzenliğini ve genel bitki-mikroorganizma etkileşimlerini de düzenlerler. Bu bağlamda, fitohormonlar olan etilen (ET), indol-3-asetik asit (IAA) (bir oksin) ve salisilik asit (SA), bitki gelişiminin programlanmasında, bitki mikrobiyomu oluşum süreçlerinde ve genel bitki- mikroorganizma etkileşimlerinde merkezde yer alan temel düzenleyicilerdir. Bitki ile ilişkili bakteriler, toprakta ve bitki dokularında bu önemli hormonların (ET, IAA, SA) seviyelerini modüle etme ve sonuç olarak bitki büyümesini, gelişimini ve stres direncini etkileme yeteneğine sahiptirler. Bitki hormonu seviyelerinin bakteriyel modülasyonu, fitohormonların doğrudan üretimiyle (örneğin IAA ve diğer oksinler) veya fitohormonların (örneğin IAA ve SA) veya bunların öncüllerinin (örneğin; 1-aminosiklopropan-1-karboksilatik asit, ACC, ET öncüsü) doğrudan katabolizmasıyla ilave bir şekilde meydana gelebilir (Nascimento vd., 2019). Bazı rhizosfer bakterilerinin (bitki büyümesini teşvik eden rhizobakteriler-PGPR olarak da bilinir) stresli ortamlarda (kuraklık, tuzluluk, optimum olmayan

sıcaklık, toksik metaller, insan yapımı-orişinli organik maddelerle kirlilik) bitki büyümesini destekleme kapasitesi giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Mikroorganizmalar, büyümeyi teşvik eden hormonları sentezleyerek ve büyümeyi inhibe eden hormonları metabolize ederek, bitki büyümesini doğrudan etkileyebilir (Kudoyarova vd., 2019). Bununla birlikte, bitki hormon sistemleri üzerindeki PGPR etkileri, büyüme ortamlarına bağılı olarak bitkiler için faydalı veya zararlı olabilir; birçok literatür, bitki büyümesinin engellenmesinin (desteklemenin aksine) bitkileri stres faktörlerine karşı koruduğunu göstermektedir (Achard vd., 2006; Bechtold ve Field, 2018; Chapin, 1991; Chaves vd., 2003). Kök büyümesinin Rhizobakteriyel uyarımının, çoğunlukla indol asetik asit (IAA - oksin sınıfının en yaygın, doğal olarak oluşan bitki hormonu) sentezleme kapasiteleri yoluyla olduğu düşünülmektedir (Spaepen ve Vanderleyden, 2011). Bakteriyel fitohormon üretiminin birçok yönü (esas olarak IAA biyosentezi) ayrıntılı olarak tanımlanmış ve incelenmiş olmakla beraber (Duca vd., 2014; Spaepen ve Vanderleyden, 2011) yararlı bitki-mikroorganizma etkileşimlerinde bakteriyel fitohormon katabolizmasının etkisi hakkında çok daha az şey bilinmektedir. Bununla birlikte, birkaç çalışma, bakteriyel fitohormon katabolizmasının, bitki büyümesini ve simbiyotik süreçleri ve ayrıca biyotik ve abiyotik streslere karşı direnci pozitif olarak modüle etmedeki önemli rolünü göstermiştir. Örneğin, birçok PGPB, ACC'yi amonyağı ve α -ketobütirata dönüştüren ACC deaminaz üreterek hem bitki ACC hem de ET seviyelerini azaltabilir (Glick, 2014). ACC, biyotik ve abiyotik strese maruz kalan bitkide konsantrasyonu artan bir etilen öncü moleküldür. Çeşitli toprak mikroorganizmalarının, ACC'yi parçalayan ve böylece konukçu bitkilerdeki stres etilenini azaltan ACC deaminaz (ACCd) ürettiğı rapor edilmiştir. Bu bulgular stres koşulları altında bitki sağılığını ve büyümesini yönetmek için stratejilere yol açmıştır (Tiwari vd., 2018). ACC deaminaz ekspres eden PGPB'nin, çeşitli stres koşulları altında birkaç bitki türünün büyümesini ve nodülasyonunu desteklediğı gösterilmiştir (Glick vd., 2007; Nascimento vd., 2014). Bazı toprak ve bitki ilişkili bakteriler, örneğin *Bradyrhizobium*, *Azoarcus*, *Paraburkholderia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter* ve *Rhodococcus* suşları IAA'yı çeşitli biyokimyasal yollarla katabolize etme yeteneğine sahiptirler (Egebo vd., 1991; Jensen vd., 1995; Leveau vd., 2005; Leveau vd., 2008; Scott vd., 2013; Zúñiga vd., 2013). Ayrıca, IAA katabolizması PGPB'nin *Pseudomonas putida*

1290 ve *Paraburkolderia phytofirmans* PsJN gibi bakterilerin bitki büyümesini destekleyici özelliklerinde önemli bir rol oynar (Ebenau-Jehle vd., 2012; Leveau vd., 2008).

ACC deaminazın bitki büyümesinin desteklenmesindeki işleyişini açıklayan bir modelde, bir bitkide bulunan PGPB tarafından üretilen IAA (endojen bitki IAA'sı ile beraber) büyümeyi teşvik eder ve aynı zamanda sonuçta elde edilen bitki ACC sentazının transkripsiyonunu kolaylaştırır, bu ise etilen seviyesinin artmasına neden olarak bitki büyümesini engeller. ACC sentaz transkripsiyonunun, IAA stimülasyonunu takiben artan ACC'nin büyük kısmı, ACC deaminaz üreten PGPB tarafından alınır ve daha sonra hidrolize edilerek, devre dışı bırakılır. Dolayısıyla PGPB'nin etkisi nedeniyle ACC seviyeleri ve dolayısıyla bitki etilen seviyeleri düşer ve IAA, ACC'de engelleyici bir artış yaratmadan bitki büyümesini desteklemeye devam edebilir. Özellikle hem biyotik hem de abiyotik stres dönemlerinde bitki etilen seviyelerinin düzenlenmesindeki kritik rolü göz önüne alındığında, ACC deaminazın işleyişi, PGPB'nin bitki büyümesini ve gelişimini kolaylaştırmak için kullandığı temel mekanizmalardan biridir (Lebeis vd., 2015).

Bitki hormonu salisilik asit (SA), bitki savunmasında, stres tepkilerinde ve yaşlanmada kritik rol oynar. SA'nın bitki savunmasındaki ve senesense ki (programlanmış hücre ölümünün hızlı bir şekli) rolleri yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Zhang vd., 2013). SA hidroksilazların, senesensin regülasyonunda ve bitki patojenlerine karşı savunma mekanizmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Bartsch vd., 2010). SA-yıkıcı bakterilerin, SA ile muamele edilmiş *Arabidopsis* bitkilerinde rhizosferik ve endofitik kısımlarda zenginleştiği bulunmuştur (Maruri-López vd., 2019). SA'nın degradasyonu, bitki ile ilişkili bakterilerin kolonizasyon yetenekleriyle yakından ilişkilidir (Lebeis vd., 2015). Bunun yanı sıra SA, toprakta bulunan naftalin ve fenantren gibi çeşitli kirletici aromatik bileşiklerin bakteriyal yıkımında ortaya çıkan bir ara bileşendir (Maruri-López vd., 2019). SA degrade edebilen bakterilerin tanımlanması bu açılarından önem arz etmektedir. Bunlara ek olarak salisilat hidroksilaz vasıtasıyla SA degradasyonu sonucu oluşan kateşol bileşeni, toprak mikrobiomundaki bazı bakteriler tarafında siderefor oluşumunda kullanılmaktadır (Grobelak ve Hiller, 2017; Orozco-Mosqueda vd., 2023; Xue vd., 2006). Sidereforlar demir miktarının yetersiz olduğu koşullarda yaşayan bakteri ve

mantarlar tarafından üretilen, demiri (Fe) şelatlamak için oldukça yüksek ve spesifik afiniteye sahip düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerdir (Xue vd., 2006). Fe sıklıkla nötr ve alkali pH'ta çözünmeyen hidroksitler halinde oluşur, bu da onu kullanılamaz hale getirir. Böylece birçok mikroorganizma, demir taşıyıcıları ve şelatörleri olan sideroforların sentezi ve atılımı yoluyla mevcut Fe havuzunu artırır. Sideroforlar kadmiyum (Cd), bakır (Cu), kurşun (Pb), çinko (Zn) ve hatta radyonüklid-uranyum (U) gibi ağır metallerle kararlı kompleksler oluşturma kapasitesine sahiptir. Ağır metallerle kompleksler oluşturma ve bunların bitkiler için kullanılabilirliğini artırma konusundaki bu özel yetenek, fitoremediasyon uygulamalarında büyük önem taşımaktadır (Grobelaç ve Hiller, 2017). Sideroforlar ayrıca, Fe bağımlı patojen fungusların ve zararlı mikroorganizmaların toprakta üremesini de engellemektedir (Ahmad vd., 2008; Kabir vd., 2023).

SA'nın katabolizması, çeşitli toprak ve bitki ilişkili bakterilerde bulunan bir özelliktir ve SA hidroksilaz, salisilat hidroksilaz gibi yardımcı enzimlerin etkisinden kaynaklanır (Ahmad vd., 2008; Bartsch vd., 2010; Bosch vd., 1999; Fuenmayor vd., 1998; Grobelaç ve Hiller, 2017; Kabir vd., 2023; Maruri-López vd., 2019; Orozco-Mosqueda vd., 2023; Xue vd., 2006; Zhang vd., 2013) . Simbiyotik ve bitki ilişkili bakteriler arasında ACC, IAA ve SA bozunma mekanizmalarının varlığı, bitki konakçısı ve bitki büyümesini teşvik faaliyetleriyle yakın bir evrimsel ilişki olduğunu öngörmektedir (Nascimento vd., 2019).

IAA, N-heterosiklik bir bileşiktir. IAA'nın bakteriyal katabolizması sonucu kateşol ve 2-aminobenzoil-CoA meydana gelmektedir (Laird vd., 2020). Bakterilerin IAA'yı bir fitostimölasyon etkeni olarak kullandıkları ve bu şekilde bitki kökenli IAA'nın bakteriyal kolonizasyonda önemli bir sinyal molekölü olduğu ve patojen bakterilerin bitki savunma mekanizmasını atlatmak için IAA'yı kullandıkları rapor edilmiştir (Laird vd., 2020; Navarro vd., 2006). Bitki oksin sinyalinin düşürölmesi bakteriyel patojenlere karşı direnci artırabilir. Oksinin, bitki savunma genlerinin ekspresyonunu inhibe ettiği ve oksinin dışarıdan uygulanmasının bakteriyel patojene karşı duyarlılığı artırdığı tespit edilmiştir (Cerboneschi vd., 2016; Conway vd., 2022; Navarro vd., 2006; Remans vd., 2006). Yapılan başka bir çalışmada IAA katabolize edebilen *Variovorax* cinsi bakterilerin, *Arabidopsis*'te steriotipik kök gelişiminin sağlanması yönünde önemli etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Finkel vd., 2020).

Patojen olmayan bakteriyal IAA katabolizmasının, bitkinin patojenlere karşı direnç mekanizmalarının artırılmasında etkili olabileceği öngörülmektedir.

Çay, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze (*Theaceae* familyası) ağırlıklı olarak kateşinlerden oluşan polifenolik maddelerden dolayı yüksek antioksidan değeriyle bilinen değerli bir bitkidir. Çay bitkisi rhizosferi, toprak kaynaklı hastalıkların çoğuna karşı etkili bir dizi mikrobiyal antagonisti (MA) barındırır. Mikrobiyal antigonizm toprakta bulunan patojen kaynaklı mikroorganizmalar ile normal toprak mikrobiomunun arasında görülen rekabet olarak ifade edilebilir (Bora ve Bora, 2021). Bu rekabet başta fitohormon üretimi ve degradasyonu olmak üzere pek çok düzenleyici mekanizmayı etkilemekte ve çayın verimi üzerinde etkili olmaktadır. Çay rhizosferinde ki mikrobiyal çeşitliliğin 5 ila 8 yıllık çay plantasyonlarında giderek arttığı, 50 ila 90 yıllık plantasyonlarda ise giderek azaldığı tespit edilmiştir (Kui vd., 2021). Yaşlanan çay plantasyonlarında sık budamaya bağlı olarak toprakta bitki polifenollerinin birikmesi sonucu mikrobiyal topluluklardaki değişim nedeniyle toprak hastalıklarının gözlemlendiği bildirilmiştir (Arafat vd., 2020).

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda çay bitkisinde abiyotik strese dayanıklılığı artıran AAC deaminaz (Wang vd., 2022) ile IAA ve SA gibi fitohormonları üretebilen çeşitli toprak, rhizosferik ve endofitik bakterilerin izolasyonları gerçekleştirilmiş (Hazarika vd., 2021; Wang vd., 2022) olmakla beraber Türk çayı ve toprağı ile etkileşimli olan fitohormon degrade edebilen bakterilerin rhizosfer, filosfer ve endofitik izolasyonu ile ilgili kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Çay mikrobiomundaki biyokimyasal etkileşim ağlarını şekillendiren geri bildirimleri (anabolik ve katabolik olarak) optimize etmenin, daha dayanıklı ve verimli mahsuller geliştirmek için umut verici bir ekolojik strateji olacağı öngörülmektedir.

1. FİTOHORMONLAR VE BİTKİ GELİŞİMİ ÜZERİNDEKİ ROLLERİ

1.1. Fitohormonların Tanımı, Sınıflandırılması

Bitkiler büyümeleri ve gelişmeleri için güneş ışığına, suya, oksijene ve minerallere ihtiyaç duyarlar. Dış etkenlerin yanı sıra bitkilerin büyümesini ve gelişimini düzenleyen bazı içsel etkenler de vardır (Lynch vd., 2012; Vaishnav vd., 2023). Bunlara bitki hormonları veya "Fitohormonlar" denir. "Hormon" terimi başlangıçta hayvanlardaki belirli organlar, bezler, dokular veya hücreler tarafından üretilen ve damarlar (veya diğer benzer dokular) tarafından az çok belirli dokulara taşınan ve metabolizmaları üzerinde bir miktar etkisi olan salgı maddelerini ifade etmek için dar bir şekilde kullanılıyordu (Park vd., 2017; Vaishnav vd., 2023). Ancak bu terim artık, canlı organizmalarda hareketli sinyaller olarak işlev gören molekülleri tanımlamak için daha genel bir anlamda kullanılmaktadır. Bu nedenle, "hormon" kelimesi çoğu zaman önüne bir tür adı eklenerek; örneğin hayvan hormonları, bitki hormonları, böcek hormonları gibi sınıflamalarla birlikte kullanılmaktadır. Her canlı türünün, genellikle o türe özgü olan ve biyolojik süreçlerinin özelliklerini yansıtan hormonları bulunmaktadır. Bitkilerin yaşam döngüleri boyunca sürekli olarak yeni organ ve dokular oluşturabilme yeteneği, yani gelişimsel esneklik olarak bilinen bu olağanüstü büyüme kapasitesi, en azından kısmen bitki hormonlarının işlevlerine atfedilebilir (Vaishnav vd., 2023; Weyers vd., 2001). Bitki hormonları, az miktarda mevcut olduğunda fizyolojik işlevleri etkileyen bir grup organik, doğal olarak oluşan kimyasaldır. "Fitohormonlar" terimi yaygın olarak kullanılmasa da, bitki hormonları da bu şekilde adlandırılmıştır (Acharya vd., 2008; Vaishnav vd., 2023). Bitkisel fitohormonlar, bitki büyümesi, gelişimi ve çevresel yanıtlara ilişkin hemen hemen tüm süreçleri düzenleyen kritik sinyal molekülleridir (Choudhary ve Kumari, 2021).

Bitki hormonları bitkinin yaşam döngüsünün her aşamasını kontrol eder. Genel olarak, birden fazla hormon bitkinin biyolojik aktivitesini etkiler, bu nedenle biyolojik olgular sıklıkla birden fazla farklı hormonun birleşik etkileşimlerini temsil eder (Vaishnav vd., 2023; Wang vd., 2011). Bitkiler biyotik ve abiyotik baskılarla karşılaştıklarında, zorlu durumlardan kaçabilen hayvanların aksine, yalnızca çeşitli biyolojik süreçleri değiştirerek hayatta kalabilirler. Bu koşullarda, bitki hormonları

ayrıca bitki stres toleransının oluşturulması ve sürdürülmesi için biyolojik reaksiyonları değiştirmek üzere birlikte çalışırlar. Hücre dışı veya hücre içi sinyallerin hücrel tepkilere dönüştürülmesi, sinyal iletimi olarak bilinen bir işlemdir. Sinyal iletimi süreçleri hormonların işlevinde rol oynar. (Totaro vd., 2018; Vaishnav vd., 2023).

Fitohormonların sınıflandırılması, ilk keşiflerinden bu yana önemli ölçüde değişmiştir (Yamaguchi vd., 2010). Geleneksel sınıflandırma sistemi beş ana fitohormon grubunu kabul etmiştir: oksinler, giberellinler, sitokininler, absisik asit ve etilen (Matthysse ve Scott, 1984; Theologis, 1989). Ancak, modern sınıflandırma sistemi, son yıllarda yapılan araştırmalarla keşfedilen ek hormon sınıflarını da içerecek şekilde genişletilmiştir. Bitki hormonlarının tanımı ise hâlâ tam olarak netlik kazanmamıştır; bir bileşiğin fitohormon olarak sınıflandırılması, dikkate alınan ölçütlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Yamaguchi vd., 2010).

1.1.1. Klasik Fitohormonlar ve Modern Eklemeler

Klasik fitohormonlar; oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etileni içermektedir (Sezgin ve Kahya, 2018). Bu hormonlar 20. yüzyılın ortalarında keşfedilmiş olup, temel bitki süreçlerindeki rolleri açısından kapsamlı şekilde incelenmiştir (Seif El-Yazal ve Seif El-Yazal, 2015).

Son yıllarda yapılan keşifler, brassinosteroidler, jasmonatlar, salisilik asit ve strigolaktonlar gibi yeni hormon sınıflarını da tanımlamıştır (Choudhary ve Kumari, 2021; Kulaeva ve Prokoptseva, 2004). Ayrıca, bitki büyümesi ve gelişiminde belirgin fizyolojik roller üstlenen bazı peptitler de, artık bilinen bitki hormonlarına benzer şekilde tanınmaktadır (Yamaguchi vd., 2010).

1.2. Kimyasal Yapılar ve Biyosentetik Yolaklar

Fitohormonların etkileri, hem gen ekspresyonunun aktivasyonu yoluyla yeni protein sentezinin indüklenmesini hem de baskılayıcı proteinlerin ubiquitin sistemi aracılığıyla yıkımını içerir. Sinyal iletim sistemleri ise ikinci habercileri, hormona bağımlı trans-faktörleri ve bu faktörler tarafından kontrol edilen genleri kapsar (Kulaeva ve Prokoptseva, 2004). Karmaşık çapraz konuşma (crosstalk) ağları aynı anda birden fazla hormonu içerir. Örneğin, derinsu pirincinde adventif kök gelişimi;

etilen, giberellin ve absisik asit arasındaki etkileşimleri ve bunlara özgü düzenleyici evreleri kapsar (Steffens ve Sauter, 2006). Fitohormonlar arasındaki çapraz konuşma, bitki büyümesi ile stres tepkilerinin entegrasyonu açısından da hayati öneme sahiptir. Bu etkileşimler, gelişimsel süreçlerin uygun zamanlama ve koordinasyonla gerçekleşmesini sağlar (Gaspar vd., 2000).

1.2.1. Salisilik Asit (SA) ve Bitkilerdeki Rolü

Salisilik asit (SA; 2-hidroksibenzoik asit) bitkiler tarafından sentezlenen birçok fenolik bileşikten (bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan bir benzen halkası içeren bileşikler olarak tanımlanır) biridir. Bitki fenollerinin çeşitliliğine ve yaygınlığına rağmen, bu bileşikler geleneksel olarak önemsiz, ikincil metabolitler olarak kabul edilmiştir. Ancak, daha sonra fenollerin, lignin ve pigment biyosentezi, allelopati ve abiyotik ve biyotik streslere verilen tepkilerin düzenlenmesi dahil olmak üzere birçok önemli süreçte yer aldığı gösterilmiştir (Métraux vd., 1993; Dempsey ve Klessig, 2017). Örneğin SA, bitki büyümesinin ve gelişiminin birçok yönünü, termojenezi ve hastalık direncini düzenlemede doğrudan veya dolaylı roller oynayan kritik bir hormondur (Dempsey ve Klessig, 2017; Klessig vd., 2009). Bitkilerdeki işlevlerinin ötesinde, SA ve asetillenmiş türevi (genellikle aspirin olarak bilinir) insanlar için önemli farmakolojik ajanlardır (Dempsey ve Klessig, 2017; Weissmann, 1991).

Bitkiler, SA'yı ve diğer birçok önemli bileşiği sentezlemek için izokorizat (IC) ve fenilalanin amonyak-liyaz (PAL) yollarını kullanırlar (Dempsey vd., 2011; Dempsey ve Klessig, 2017). SA biyosentezi için hiçbir yol tam olarak anlaşılmamış olsa da, her ikisinin de birincil metabolit korizmata ihtiyaç duyduğu bilinmektedir (Dempsey vd., 2011; Dempsey ve Klessig, 2017; Gao vd., 2015; Kahn vd., 2015). PAL yolunda PAL, fenilalanini (Phe) trans-sinamik aside (t-CA) dönüştürür. Bitki türüne bağlı olarak, t-CA, orto-kumarik asit veya benzoik asit (BA) ara maddeleri aracılığıyla SA'ya dönüştürülür. BA'nın SA'ya dönüşümü muhtemelen BA 2-hidroksilaz aracılığıyla gerçekleşir. IC yolu, bitkilerin SA'yı bazı bakterilerinkine benzer bir yolla sentezlediği hipotezine dayanarak tanımlanmıştır (Dempsey ve Klessig, 2017; Wildermut vd., 2001). Gerçekten de, korizmatı, izokorizmata dönüştüren izokorizmat sentazı (ICS) kodlayan genler, birçok bitki türünde tanımlanmıştır. Ancak,

izokorizmatı, SA ve piruvata dönüştüren bakteriyel izokorizmat pirüvat liyaz ile ilgili hiçbir bitki geni tanımlanmamıştır. Sentezinin ardından, *Arabidopsis* ICSI, SA sentezinin gerçekleştiği kloroplast stromasına aktarılır (Dempsey ve Klessig, 2017; Strawn vd., 2007).

IC yolunun önemini gösteren bir çalışmada, ICS geninde mutasyon taşıyan *Arabidopsis* mutantlarının patojen enfeksiyonu sonrası oluşan SA'yı %90-95 daha az biriktirdiği ve SA üretiminin düşmesine bağlı olarak, hastalık direncinde azalma gösterdiği görülmüştür (Dempsey ve Klessig, 2017; Dewdney vd., 2000; Nawrath vd., 1999; Strawn vd., 2007). Benzer şekilde, patojen istilasından kaynaklı SA üretimi, ICS ile susturulmuş domateste ve *Nicotiana benthamiana*'da bastırılmıştır (Catino vd., 2008; Dempsey ve Klessig, 2017; Uppalapati vd., 2007). Dahası, çeşitli patojenler, bitki SA üretimini bastırarak virülansı destekleyen korismat-izokorizmat metabolize eden enzimler salgılar (Dempsey ve Klessig, 2017; Djamei vd., 2011; Zhang vd., 2014). Her iki ICS geni için de kusurlu olan *Arabidopsis* mutantları ICS aktivitesinden yoksun olduğu ancak düşük SA seviyeleri (Dempsey ve Klessig, 2017; Garcion vd., 2008), muhtemelen PAL enzimine dayanan alternatif bir yolun işlevsel olarak aktif kalabileceğini göstermektedir.

Gerçekten de, PAL enzimi eksik olan *Arabidopsis*, tütün ve biber bitkilerinde patojen enfeksiyonu sonrası salisilik asit (SA) üretimi ve hastalık direnci azalmıştır. Öte yandan, biberden izole edilen *CaPAL1* genini aşırı şekilde ifade eden *Arabidopsis* bitkileri, patojen kaynaklı SA üretiminde ve hastalık direncinde artış göstermiştir (Dempsey ve Klessig, 2017; Huang vd., 2010; Kim ve Hwang, 2014; Pallas vd., 1996). Bununla birlikte, patojen kaynaklı SA üretiminin PAL baskılanmış bitkilerde hala meydana geldiği, ICS eksikliği olan bitkilerde ise büyük ölçüde ortadan kalktığı belirtilmelidir. PAL baskılanmasının SA üretimini fenilpropanoid yolunu etkileyerek mi yoksa korismat gibi SA öncülleri üzerinde dolaylı bir etki yoluyla mı etkilediği belirsizdir (Dempsey ve Klessig, 2017; Huang vd., 2010; Kim ve Hwang, 2014).

Yükseltilmiş bitki savunma potansiyelinin bir başka iyi çalışılmış mekanizması, kök mikrobiyomunun yararlı üyeleri tarafından çok çeşitli bitki konakçılarına karşı tetiklenen ve onları çeşitli patojenik tehditlere karşı dirençli hale getiren uyarılmış sistemik dirençtir (ISR=Induced Systemic Resistance) (Pieterse vd., 2014). Bitki savunmalarının sistemik aktivasyonu, farklı bitki organlarında yararlı bir

etkileşim mesajını getiren savunmayla ilgili hormon sinyal yollarının karmaşık bir ağı tarafından sağlanır (Pieterse vd., 2009; Pieterse vd., 2014). ISR fenomeni ilk olarak *Pseudomonas* cinsinin bakterileri için tanımlanmıştır ve bu mekanizma patojenler tarafından uyarılan "sistemik edinilmiş direnç"ten (SAR=Systemic Acquired Resistance) ayırt edilmiştir (Pieterse vd., 2014). ISR, *Bacillus* ve *Serratia* cinsi bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPR) ve *Trichoderma* cinsi bitki büyümesini teşvik eden mantarlar (PGPF), *Fusarium* ve *Serendipita* ve AMF için de tanımlanmıştır (Harman vd., 2004; Jung vd., 2012; Kloepper vd., 2004; Pieterse vd., 2014; Shores vd., 2010) ve mikrobiyal salgılanan SM (sekonder metabolit) 'nin algılanmasıyla belirlenir (Manganiello vd., 2018; Ongena ve Jacques, 2008; Raaijmakers vd., 2010; Stringlis vd., 2018c). İlginç bir şekilde, ISR savunma tepkilerinin yalnızca patojen saldırısından sonra aktive olmasıyla karakterize edilir ve bitkiyi büyük bir enerji tüketiminden kurtarır. "Saldırı anında" savunma aktivasyonu mekanizmasına astarlama denir ve bitkilerin patojenler veya böcekler tarafından bir meydan okuma gerçekleşene kadar bağışıklık sistemlerini sessizce uyarmalarına olanak tanıyan enerji tasarrufu sağlayan bir adaptasyonel stratejidir. Bu meydan okumanın ardından bitkiler tüm hücresel tepkileri daha hızlı ve/veya daha güçlü bir şekilde devreye sokarak daha verimli ve etkili bir direnç elde ederler (Martinez-Medina vd., 2016; Pieterse vd., 2014).

Yukarıda sunulan tüm yararlı ilişkiler, konak bitki ile tek bir yararlı mikroorganizma arasındaki etkileşime dayanmaktadır. Modern bütünsel yaklaşımlar, bitki sağlığını bitkiyle ilişkili tüm mikrobiyal toplulukla ilişkilendirmeyi amaçlamaktadır. Bu durumda, mikrobiyal genler bitki genetik repertuarının bir uzantısı olarak kabul edilir ve bitki büyümesi, üreme ve hastalık direncine fayda sağlayan belirli işlevler gerçekleştirir (Hassani ve diğerleri, 2018; Vandenkoornhuyse vd., 2015). Topluluk düzeyindeki metagenomik çalışmalar, bitki büyümesini teşvik eden veya sistemik direnci indükleyen çoğu mikroorganizmada, işlevsel yedeklilik veya örtüşen genomik özellikler olup olmadığını açıklığa kavuşturabilir ve bu şekilde yeni PGPR veya PGPF'nin keşfini mümkün kılabilir (Bai vd., 2015; Berendsen vd., 2018; Lugtenberg ve Kamilova, 2009; Pascale vd., 2020; Pieterse vd., 2014; ; Zeilinger vd., 2016).

1.2.2. Aminosiklopropan-1-Karboksilat (ACC) ve Etilen Biyosentezi

1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit (ACC), üç üyeli halka yapısına sahip, protein yapısına katılmayan (non-proteinojenik) bir amino asittir. ACC, 1901'de Neljubov tarafından bitki büyümesinin düzenleyicisi olarak tanımlanan, uçucu haldeki bitki hormonu etilenin öncüllerindendir. Yıllar süren yoğun araştırmalar, etilenin bitkilerdeki birçok yanıtını ortaya koymuştur (Abeles vd., 1992; Vanderstraeten & Van Der, 2017). Bu iki karbon atomlu molekül, bitkilerin vejetatif büyümesiyle ilgili çeşitli süreçleri kontrol etmekle birlikte, aynı zamanda tohum çimlenmesi, meyve olgunlaşması, yaprak ve çiçek yaşlanması ve dökülmesi gibi önemli rollere de sahiptir (Bakshi vd., 2015; Lin vd., 2009; Vanderstraeten & Van Der, 2017). Yukarıda belirtilen süreçlerde, etilen üretimi, nispeten düşük temel seviyelere kıyasla önemli ölçüde artar. Çimlenme gelişiminin düzenlenmesi, etilen yanıtlarının en iyi karakterize edilen süreçlerinden biridir (Knight ve Crocker, 1913).

Lieberman ve Mapson (1964), Lieberman vd., (1965), Murr ve Yang (1975), Adams ve Yang (1977), ve Adams ve Yang (1979) etilen biyosentezi hakkındaki anlayışımıza önemli katkılarda bulunmuşlardır. Daha yüksek bitkilerde etilen, metiyonin amino asidinden üretilir (Lieberman ve Mapson, 1964; Lieberman vd., 1965; Vanderstraeten & Van Der, 2017), bu aynı zamanda L-metiyonin-S-adenoziltransferaz olarak da bilinen SAMS (Adams ve Yang, 1977, 1979; Murr ve Yang, 1975; Vanderstraeten & Van Der, 2017) tarafından S-adenozil-L-metiyonine (SAM) dönüştürülür (Burg, 1973; Vanderstraeten & Van Der, 2017). Ardından, üç üyeli halkalı bir amino asit olan, ACC (Adams ve Yang, 1979), ACC sentaz (ACS) enzimi tarafından katalize edilen bir reaksiyonla oluşur (Boller vd., 1979; Vanderstraeten & Van Der, 2017). ACS, P5P (piridoksal-5'-fosfat) bağımlı enzimler ailesinin bir parçasıdır ve PLP'yi kofaktör olarak gerektirir. P5P'nin katalitik bölgeye bağlanmasının ardından, ACS, SAM'den 50-metiltiyoadenozin (MTA) molekülünü koparır ve ACC'nin karakteristik siklopropan halkasının oluşumunu tetikler (Liang vd., 1992; Vanderstraeten & Van Der, 2017; Yu ve vd., 1979). MTA, Yang döngüsü veya Metiyonin Kurtarma Yolu olarak bilinen bir dizi farklı reaksiyonla tekrar metiyonine dönüştürülür (Burstenbinder vd., 2010; Miyazaki ve Yang, 1987; Murr ve Yang, 1975; Vanderstraeten & Van Der, 2017). SAM'den sülfür ve metil grubunun Yang döngüsü ile geri dönüştürülmesi sayesinde, bitki, sülfür içeren metiyonin havuzu

tükenmeden, yüksek seviyelerde etilen üretebilir (Miyazaki ve Yang, 1987; Vanderstraeten & Van Der, 2017 Bu süreç, sülfürün bitkiler için sınırlayıcı bir bileşik olduğu için çok önemlidir. Son biyosentetik adımda, ACC, ACC-oksidad (ACO) enzimi tarafından katalize edilen bir reaksiyonla etilene dönüştürülür.

1.2.3. İndol-3-Asetik Asit (IAA) ve Bitki Büyümesindeki Etkileri

Bitki hormonu indol-3-asetik asit (IAA), ev sahibi bitki ile mikroorganizmalar arasındaki iletişimde rol oynar; bu mikroorganizmalar, bitkiyle ilişkili mikroorganizmalar (Contreras-Cornej vd., 2009; Jahn vd., 2021; Ortiz-Castro vd., 2011; Rai vd., 2005) ve endofitler (Jahn vd., 2021; Rai vd., 2005 ; Suebrasri vd., 2020) olduğu gibi, bitki patojenlerini de (Jahn vd., 2013; Jahn vd., 2021; Leontovycová vd., 2020; Vandeputte vd., 2005) içerir. IAA, diğer fitohormonlarla birlikte, bitki büyümesi ve gelişiminden sorumludur. Hücre büyümesi, kök oluşumu, tropizm, meyve olgunlaşması veya yaşlanma gibi neredeyse her bitki sürecine dahil olur (Davies, 2010; Jahn vd., 2021) . Bitkiyle ilişkili mikroorganizmalar bitkinin IAA seviyelerini düzenleyebiliyorsa, bitki metabolizmasını kendi lehlerine etkileyebilirler; bu, patojen olarak veya faydalı mikroorganizmalar olarak olabilir. Bu durumda, mikroorganik IAA, bitkiler ve mikroorganizmalar arasındaki iletişimde bir aracı görevi görür ve her iki ortak arasındaki iletişimde kilit bir rol oynar. Mikroorganizmalar, bitki oksin seviyelerini değiştirerek bitki gelişimini etkileyebilir.

Bitkilerdeki IAA konsantrasyonu, esas olarak biyosentez, taşıma, konjugasyon ve yıkım gibi farklı mekanizmalarla kontrol edilebilir (Jahn vd., 2021; Ludwig-Müller, 2011). Bunun yanı sıra, bitkilerin oksin seviyeleri, mikroorganizmalar tarafından *de novo* IAA biyosenteziyle de etkilenebilir. Ancak, mikroorganizmalar tarafından üretilen IAA'nın etkin olabilmesi için, ya bir ev sahibi bitkinin içinde bulunmaları ya da IAA'nın genellikle kökler aracılığıyla bitki tarafından alınması gerekir (Jahn vd., 2021).

İndol-3-asetik asit (IAA), oksin ailesinin en bol bulunan fitohormon üyesidir ve bitkilerde ve bakterilerde biyosentezi farklı biyosentetik yollarla gerçekleşir: hem triptofan (Trp)-bağımlı hem de Trp-bağımsız yollar tanımlanmıştır (Eckardt, 2001; Ljung vd., 2002; Luziatelli vd., 2020). Trp-bağımlı IAA biyosentezinde yer alan farklı ara ürünlere dayanarak, bakterilerde beş farklı yol karakterize edilmiştir: indol-3-

asetamid (IAM), indol-3-pirüvik asit (IPyA), indol-3-asetonitril (IAN), triptamin (TAM) ve Trp yan zinciri oksidaz yolu (Doktycz, 2019; Patten vd., 2013). Trp-bağımsız yolun bakterilerde de gerçekleştiği düşünülse de (Luziatelli vd., 2020; Prinsen vd., 1993), bu yolda spesifik enzimler henüz karakterize edilmemiştir.

IPyA yolu, bitki yararlı bakterilerinde, örneğin *Azospirillum brasilense* ve *Enterobacter cloacae* kompleksinin temsilci üyelerinde çalışır ve son derece sıkı bir şekilde düzenlenir. Bu yolda, triptofan (Trp) IPyA'ya transaminasyonla dönüştürülür, ardından enzim indol-3-pirüvat dekarboksilaz (IPDC; EC 4.1.1.74) tarafından indol-3-asetaldehit (IAAld) olarak dekarboksilasyon yapılır ve sonrasında IAAld, IAA'ya oksitlenir. Bu yolun ana enzimi olan IPDC, *ipdC* geni tarafından kodlanır ve *ipdC* geninin silinmesi veya fonksiyonel inaktive edilmesi, bazı suşlarda, örneğin *Enterobacter ludwigii* (eskiden *E. cloacae*), *A. brasilense*, *Pantoea agglomerans* 299R ve *Pantoea* türleri YR343 gibi IAA biyosentezini etkiler (Brandl ve Lindow, 1997; Garcia vd., 2019; Koga vd., 1991; Luziatelli vd., 2020; Malhotra ve Srivastava, 2008). IPDC genleri, yaklaşık 550 amino asit uzunluğunda olan polipeptitleri

kodlar ve her alt birim için moleküler kütlesi 60 kDa'dır. *E. ludwigii* UW5'ten elde edilen homotetramerik IPDC, biyokimyasal ve yapısal düzeyde karakterize edilmiş olup, 240 kDa moleküler kütleyle sahiptir ve dört molekül koenzim tiamin difosfat (ThDP) ve Mg^{2+} bağlar (Schutz vd., 2003; Luziatelli vd., 2020). *E. ludwigii* UW5'ten *ipdC* geni, transkripsiyon faktörü TyrR tarafından aktive edilir ve aromatik amino asitler Trp, tirozin ve fenilalanine yanıt olarak artar (Coulson ve Patten, 2015; Luziatelli vd., 2020; Ryu ve Patten, 2008). Ancak, düzenleme bakteri türlerine göre farklılık gösterir: *Agrobacterium*'da konstitutif; bazı *Pseudomonas* ve *Enterobacter* suşlarında özel transkripsiyon faktörleri, örneğin RpoS veya RpoN tarafından düzenlenir; bazı bitkiyle ilişkili Gram-negatif bakterilerde ise, ikincil metabolizmayı kontrol eden küresel sinyal iletim sistemi GacS/GacA tarafından düzenlenir (Luziatelli vd., 2020; Spaepen ve vd., 2007).

Son yıllarda, fitohormonlar ve bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanmasına yönelik alternatif yaklaşımlar bildirilmiştir. Bu yaklaşımlar arasında, simbiyotik organizmaların ve/veya mikroorganizmalardan ve mikrobiyal olmayan organizmalardan elde edilen doğal biyostimülanların tarım sistemlerinde ve doku kültürlerinde kullanımı yer almakta olup, bunlar aynı zamanda çevre dostudur;

mikrobiyal biyostimülanlar için de geçerlidir (Colla, 2018; Orlikowska vd., 2017; Roupael ve; Luziatelli vd., 2020; Ruzzi ve Aroca, 2015). Bu çerçevede, *P. agglomerans* türü, bitki büyümesini teşvik edici aktivitesi ile dikkat çekmiştir. *P. agglomerans* türünün biyogüvenlik grubuna 2. sınıfta dahil edilmesi ve bu türün bazen özellikle bağışıklığı zayıf bireylerde insan enfeksiyonlarına neden olması, Avrupa'da biyoinokülan olarak kullanılmasını engellemektedir (Büyükcem vd., 2018; Dutkiewicz vd., 2016a; Luziatelli vd., 2020). Ancak, artan kanıtlar, seçilen *P. agglomerans* üyelerinin, bitki büyümesini teşvik edici bakteriler olarak büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (Luziatelli vd., 2020; Paredes-Páliz vd., 2016a,b, 2017) ve bu suşlar, büyüme teşvik edici veya biyokontrol özellikleri açısından tarımsal açıdan önemli olup, giderek daha fazla bitki büyümesini teşvik edici rhizobakteriler arasında biyokontrol ajanı olarak kullanılmak üzere ideal adaylar olarak kabul edilmektedir (Dutkiewicz vd., 2016b; Luziatelli vd., 2020).

1.3. Fitohormonların Mikrobiyal Degradasyonu

1.3.1. Bitki Gelişimini Destekleyen Rhizobakteriler: PGPR'lerin Özellikleri ve Etki Mekanizmaları

1978 yılında ilk defa, bitki köklerini rekabetçi bir şekilde kolonize edebilen ve büyüme teşvik ederek bitki hastalıklarının görülme sıklığını azaltan toprak bakteriyel topluluğunu tanımlamak için "rhizobakteri" terimi ortaya atılmıştır (Giannelli vd., 2023; Kloepper ve Schroth, 1978). Daha sonra, 1981 yılında bu bakteriler "bitki büyümesini teşvik eden rhizobakteriler" (PGPR) olarak yeniden adlandırılmıştır (Giannelli vd., 2023; Kloepper ve Schroth, 1981). PGPR, toplam rhizosfer bakterilerinin yaklaşık %2-5'ini oluşturur (Antoun ve Kloepper, 2001; Giannelli vd., 2023). İdeal bir PGPR, yüksek rhizosfer uyumluluğuna sahip olmalı, bitki büyümesini iyileştirme yeteneği göstermeli, geniş bir etki alanına sahip olmalı, çevre açısından güvenli olmalı, diğer rhizobakterilerle uyumlu olmalı ve ısıya, UV radyasyonuna ve oksidanlara karşı dayanıklı olmalıdır (Giannelli vd., 2023; Nakkeeran vd., 2005).

Bitkilerle olan etkileşimlerine ve bitkiye bağlanma derecelerine göre, PGPR'ler iki gruba ayrılabilir: hücre içi PGPR (iPGPR veya simbiyotik bakteriler),

bitkilerin içinde yaşayarak doğrudan metabolit değişimi yapan bakteriler; ve serbest yaşayan rhizobakteriler veya hücre dışı PGPR (ePGPR), bitki hücrelerinin dışında yaşayan bakterilerdir (Giannelli vd., 2023; Gray ve Smith, 2005; Martinez vd., 2010). iPGPR'ler, genellikle kök hücrelerinin özel nodüler yapıları içinde bulunan *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* ve *Rhizobium* gibi *Rhizobiaceae* familyasına ait birçok toprak bakteri cinsini içerir (Giannelli vd., 2023; Wang vd., 2000). Öte yandan, ePGPR'ler rhizosferde, rhizoplan yüzeyinde veya kök korteks hücreleri arasındaki boşluklarda bulunur ve *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas* ve *Serratia* gibi bakterileri içerir (Gray ve Smith, 2005).

PGPR'lerin bitkiye sağladığı faydalar, bitki üzerinde üç ana etkiyle kendini gösterir: (i) besin alımının artırılması, (ii) fitositopatolojik enfeksiyonlara (virüsler, mantarlar, bakteriler, nematodlar, böcekler vb.) karşı direncin artırılması (biyotik stres olarak da adlandırılır), (iii) ağır metaller, kuraklık, besin eksikliği, tuzluluk ve sıcaklık gibi abiyotik streslere karşı toleransın artırılması.

Bu durum, bitki performansının iyileşmesine ve dolayısıyla büyümenin artmasına yol açar. Bu olayların temelinde yatan çeşitli mekanizmalar şunlardır: (i) biyolojik azot fiksasyonu yoluyla N₂ temini, (ii) siderofor üretimi, (iii) besin maddelerinin çözünürlüğünün ve mineralizasyonunun artırılması, (iv) ACC sentezi (v) bitki hormonlarının üretimi ve modülasyonu (örneğin, IAA, sitokininler (CK), abscisik asit (ABA), gibberellik asit (GA)), (vi) Bitki patojenlerinin kontrolü (mantar hücre duvarını hidrolize edebilen enzimlerin salgılanması, besin için rekabet, sistemik direnç indüksiyonu (ISR), siderofor ve antibiyotik üretimi gibi çeşitli mekanizmalarla), (vii) ağır metal ile kirlenmiş toprakların biyoremediasyonu, (viii) abiyotik stres direncinin artırılması (Bertola vd., 2021; Choudhary, 2011; Glick, 2014; Hayat vd., 2010; Giannelli vd., 2022; Giannelli vd., 2023).

1.3.1.1. Bitki-Rhizosfer İlişkisi ve Mikrobiyal Aktivite

Bitki-mikroorganizma etkileşimi, bitkilerin Dünya'ya yerleşmesiyle başlayan karmaşık, dinamik ve sürekli bir süreçtir. Bitkiler ile mikroorganizmaların milyonlarca yıl süren birlikteliği, anaç ve anaç olmayan türlerden oluşan bir topluluk oluşturmuş

ve buna "holobiyont" adı verilen ayrık bir ekolojik birim şekil vermiştir. Hem doğal hem de tarımsal ekosistemlerde bitkiler, düzenli olarak yararlı ve patojenik mikroorganizmalar tarafından işgal edilir; bunlar genellikle bakteriler ve mantarlardır (Dolatabadian, 2020; Wille vd., 2019). Yararlı etkileşimler; mikoriza mantarları ve rhizobiyaların köklerle ilişkili olarak bitkilere mineral besin maddeleri ve azot sabitlemesi sağlaması, büyümenin fitohormonlar aracılığıyla doğrudan uyarılması, patojenik mikroorganizmalara karşı antagonizm ve streslerin hafifletilmesi gibi çeşitli doğrudan veya dolaylı mekanizmalarla tanımlanabilir. Öte yandan zararlı etkileşimler, bitkiler için olumsuzdur; çünkü istilacı mikroorganizmalar saprofit olabilir ve kolonize ettikleri bitkilerde nekrotrofiye yol açabilir. Bu nedenle, bitki–mikroorganizma etkileşimini çözümlmek, mikroorganizmaların bitkiler üzerindeki olumlu ve olumsuz etkilerini tanımda kritik bir bileşendir.

Bugüne kadar, bitki–mikroorganizma etkileşimi süreçlerini ortaya koymaya yönelik birçok araştırma yapılmıştır; örneğin, bitkilerin mikrobiyal kolonizasyona nasıl tepki verdiği ve mikrobiyal patojenler ile simbiyontların bitki hücresel süreçlerini nasıl yeniden programladığı (Cheng vd., 2019; Dolatabadian, 2020). Ancak bitkilerin yararlı ve patojenik mikroorganizmaları veya farklı patojen türlerini nasıl ayırt ettiği, genetik düzenleme ağları ve sinyal iletim yollarının bu süreçleri nasıl kontrol ettiği hâlâ tartışmalıdır. Son zamanlarda, *Lotus japonicus* LysM reseptörlerinde ligand tanıyan motiflerin özgülüğün önemli belirleyicileri olduğu keşfedilmiştir (Bozsok vd., 2020; Dolatabadian, 2020); böylece *L. japonicus* bitkileri bu küçük ve iyi tanımlanmış motifleri, bağışıklık veya kök nodül simbiyozu için farklı sinyal iletimlerini başlatmak amacıyla reseptör proteinlerinde kullanmaktadır. Araştırma bulguları ayrıca, bitki dokularında bulunan mikroorganizmaların uçucu organik bileşikler, hormonlar ve hormon taklitleri, karbonhidrat ve protein temelli sinyaller gibi birkaç farklı sinyal ürettiğini ortaya koymaktadır (Dolatabadian, 2020; Plett ve Martin, 2018). Mikroorganizmaların hayatta kalması için temel olan karbonhidrat ve protein temelli sinyaller, Mikroorganizma veya Patojenle İlişkili Moleküler Desenler (MAMP'ler veya PAMP'ler) olarak sınıflandırılmıştır (Boller ve Felix, 2009; Dolatabadian, 2020). Bunların korunmuş yapılar olması ve bitki hücrelerinde sentezlenmemesi gerçeği göz önüne alındığında, bitkiler MAMP ve PAMP'leri bağlayan ve bağışıklık yanıtlarını kontrol eden plazma zarına yerleşmiş Desen Tanıma Reseptörleri (PRR'ler)

geliştirmiştir. PAMP'lere yanıt olarak bitkiler, çoğu türde patojen enfeksiyonunu sınırlayan savunmanın ilk seviyesi olan PAMP-Tetiklenen Bağışıklığı (PTI) başlatır (Dolatabadian, 2020; Jones ve Dangl, 2006). Enfeksiyon sırasında mikroorganizmalar, patogeneze kritik rol oynayan etkileyici moleküller salgılar (Dolatabadian, 2020; Oliva vd., 2010). Buna karşılık bitkiler, bu etkileşimcilerden bazılarını (avirülans proteinlerini) doğrudan veya dolaylı olarak tanıyan direnç (R) genlerini geliştirmiştir. Bir patojenin avirülans proteinini tanımak, Etkileyici-Tetiklenen Bağışıklık (ETI) olarak adlandırılan bir dizi bağışıklık yanıtını başlatır.

1.3.1.2. Rhizosferin Ekolojik Önemi ve Mikrobiyal Zenginliği

Rhizosfer mikrobiyomu, bitki kökleriyle karmaşık etkileşimler kuran bakteri, mantar, arkea ve diğer mikroorganizmalardan oluşan çok çeşitli bir topluluktur (Tharanath vd., 2024). Bitkiyle ilişkili bakteriler, kolonizasyon biçimlerine göre serbest yaşayan toprak bakterileri, rhizosfer kolonizatörleri, rhizoplan (kök yüzeyi) kolonizatörleri ve endofitler olarak sınıflandırılabilir (Samad vd., 2019). Milyonlarca yıl boyunca bitkiler ve mikroorganizmalar, mutualistikten parazite kadar değişen çeşitli ilişkiler geliştirmiştir. Bitkiler ve onlarla ilişkili mikroorganizmalar, belirli işlevler ve özellikler için mikrobiyomlarına bağımlı olan holobiontlar olarak kabul edilebilir (Korenblum vd., 2022; Rosenberg vd., 2009). Bitkileri kolonize eden mikrobiyal hücrelerin sayısının, bitki hücrelerinin toplamından daha fazla olduğu tahmin edilmektedir; özellikle kök bölgesini kolonize eden mikroorganizmalar bu açıdan büyük önem taşımaktadır (Korenblum vd., 2022; Mendes vd., 2013). Rhizosfer, topraktaki en zengin organik madde kaynağı olarak kabul edilir ve bu nedenle mikrobiyal büyüme ve aktivite açısından bir sıcak nokta (hotspot) olarak görülmektedir (Korenblum vd., 2022; Reinhold-Hurek vd., 2015). Ayrıca rhizosferdeki (kök bölgesini çevreleyen toprak) mikroorganizma sayısı, rhizosfer dışı toprağa göre 5–10 kat daha fazladır (Groleau-Renaud vd., 2000; Korenblum vd., 2022).

1.3.1.3. Rhizosfer Mikrobiyomunun Bitkilere Sağladığı Faydalar ve Köklerin Mikrobiyal Kompozisyon Üzerindeki Etkisi

Rhizosfer mikrobiyomu, bitki konakçısına çeşitli faydalar sağlar: Mikroorganizmalar bitki büyümesini teşvik eder (Korenblum vd., 2022; Lugtenberg ve Kamilova, 2009). Besin alımını destekler (Korenblum vd., 2022; Weidner vd., 2015). Abiyotik streslere toleransı artırır (Korenblum vd., 2022; Yang vd., 2009). Bitkiyi patojenlere karşı savunur (Korenblum vd., 2022; Raaijmakers vd., 2009; Shi vd., 2017). Bitki bağışıklık sistemini modüle ederek direnç oluşturur (Bakker vd., 2013; Korenblum vd., 2022).

Kökler, belirli mikrobiyal popülasyonları seçerek rhizosferde (yani kök çevresindeki bölgede) ve endosferde (yani bitkinin iç dokularında) mikrobiyom bileşimini şekillendirir (Bai vd., 2015; Korenblum vd., 2022; Uroz vd., 2019). Bugüne kadar yapılan çok sayıda çalışma, farklı bitki türlerinin (çoğunlukla model ve tarım bitkileri, ancak bazı yabancı türler de dahil) rhizosferindeki bakteriyel topluluk yapısı hakkında geniş bilgi sağlamıştır (Bai vd., 2015; Bulgarelli vd., 2015; Kawasaki vd., 2016; Korenblum vd., 2022). Bakterilere kıyasla daha az araştırılmış olsa da, rhizosferdeki mantar toplulukları da sistematik olarak tanımlanmıştır (Berlanas vd., 2019; Korenblum vd., 2022). Ayrıca, rhizosferde arkeler, oomicetes, protozoalar ve virüsler de bulunur (Korenblum vd., 2022; Mendes vd., 2013).

Kimyasal alışverişler, kök mikrobiyomunun üyeleri arasındaki karmaşık etkileşimlerde önemli bir rol oynar. Rhizosfer mikroorganizmaları üzerindeki kök salgılarının etkisini inceleyen araştırmaların çoğu, genellikle iki organizma arasındaki ilişkiler üzerine odaklanmıştır. Bu çalışmalar; azot fikse eden bakteriler, mikoriza mantarları, bitki büyümesini teşvik eden rhizobakteriler (PGPR), biyokontrol mikroorganizmaları ve patojen mantar ve bakterilerle olan etkileşimleri ele almıştır. Bu nedenle, kök aktivitesini etkileyen ve rhizosfer mikrobiyal faaliyetlerini şekillendiren kimyasal çeşitliliği ve kimyasal sinyalleşmeyi anlamak, doğal ortamda bitkileri korumak ve tarımsal verimliliği artırmak için büyük önem taşımaktadır. Kök büyümesi, metabolizma ve ekstudasyon, rhizosfer mikrobiyotası ile etkileşimlerin kurulmasında kritik öneme sahiptir. Kök ekstudasyonu, rhizosfere salınan organik bileşiklerin ana kaynağıdır. Kök aktivitesinin toprak parametrelerinde neden olduğu değişiklikler, toprak koşullandırması olarak bilinir ve bitki–toprak geri bildirimini

etkiler (Herrera Paredes ve Lebeis, 2016; Korenblum vd., 2022). Toprak koşullandırması, rhizosferdeki mikroorganizmaların büyüme ve aktiviteleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Tersine, rhizosfer mikroorganizmaları, bitki metabolizması ve performansı üzerinde etkili olabilir (Korenblum ve Aharoni, 2019; Korenblum vd., 2022). Mikroorganizmaların bitki metabolizmasını modülasyonu yerel ya da sistemik olabilir; köklerin mikrobiyal kolonizasyonu tarafından tetiklenen bilinen sistemik yanıtlar şunları içerir: (1) azot fiksasyonu (yani nodülasyonun oto-regülasyonu [AON]; (Korenblum vd., 2022; Reid vd., 2011;), (2) hastalık direnci (yani indüklenmiş sistemik direnç (Korenblum vd., 2022 Pieterse vd., 2014) ve son olarak, (3) kök ekstudasyonu mikrobiyal olarak sistemik bir yanıtla modüle edilebilir (yani, “Sistemik Olarak İndüklenen Kök Ekstudasyonu Metabolitleri” [SIREM]) (Korenblum vd., 2020; Korenblum vd., 2022).

Topraklar, mantar, bakteri ve bitkiler gibi çeşitli organizmaların kaynaklarıdır (Egamberdieva vd., 2017; Mendes vd., 2013;). Bitki kökleri, kök ekstudatlarının zengin besin bileşeni nedeniyle, toprak ve diğer yaşam alanlarına kıyasla, mikroorganizmalarla yoğun bir şekilde kolonize olmuştur (Egamberdieva vd., 2017; Hashem vd., 2016; Schlaeppli ve Bulgarelli, 2015). Rhizosfer, amino asitler, şekerler, yağ asitleri ve diğer organik bileşikler içeren nispeten besin açısından zengin bir ortamdır ve bu durum, kök tarafından salınan çeşitli besinleri kullanan mikroorganizmaları cezbetmektedir (Egamberdieva vd., 2017; Vorholt, 2012).

Kök ile ilişkili mikroorganizmalar, serbest yaşayan, simbiyotik veya endofitik mikroorganizmalar dahil olmak üzere farklı cins ve türlere ait olabilirler (Egamberdieva vd., 2017; Sgroi vd., 2009). Örneğin, Sorty vd., (2016), halotolerant yabani ot (*Psoralea corylifolia* L.) köklerinden *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* ve *Sinorhizobium* türlerine ait çeşitli organizma grupları izole etmiştir. Egamberdieva ve ark. (2016), soya fasulyesi köklerinden *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Brevibacillus*, *Cellulosimicrobium*, *Mycobacterium*, *Ochrobactrum*, *Paenibacillus* ve *Pseudoxanthomonas* türlerini tespit etmiştir. Ayrıca, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Cellulomonas*, *Mycoplana* ve *Rahnella* buğday rhizosferinde; *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Klebsiella*, *Leifsonia* ve *Halomonas desiderata* gibi bakteriyel türler de çeşitli bitkilerle ilişkili ortamlarda izole edilmiştir

(Ahmad vd., 2016; Egamberdiyeva ve Hoflich, 2003; Egamberdieva vd., 2008; Egamberdieva vd., 2017; Großkinsky vd., 2016; Karadeniz vd., 2006; Khan ve Doty, 2009; Lawongsa vd., 2008; Piccoli vd., 2011; Salamone vd., 2001). Bitki türleri, rhizosfer mikrobiyomundaki mikrobiyal bileşim ve operasyonel taksonomik birim (OTU) bolluğu üzerinde önemli ölçüde etkilidir (Samad vd., 2019).

1.3.2. Bitki Gelişimini Destekleyen Diğer Bakteriler (PGPB)

1.3.2.1. Filosfer ve Endofitik Bakteriler

Filosfer, tüm hava ile temas eden bitki yüzeylerini kapsayan ve yeryüzündeki en geniş mikrobiyal yaşam alanlarından birini oluşturan bir ekosistemdir (Wagi ve Ahmed, 2017). Bu benzersiz ekosistem, iki farklı ekolojik nişte varlık gösteren çeşitli bakteri topluluklarını barındırır: yaprak yüzeylerini kolonize eden filofitik (epifitik) bakteriler ve bitki dokularının içinde, herhangi bir hastalık belirtisine neden olmadan yaşayan endofitik bakteriler (Shukuru vd., 2024). Bu mikrobiyal toplulukların anlaşılması, sürdürülebilir tarım uygulamalarının geliştirilmesi ve bitki verimliliğinin artırılması açısından giderek daha önemli hale gelmiştir.

Filosferik bakteriler, diğer adıyla *Phyllobacteria* veya epifitik bakteriler, bitki yapraklarının dış yüzeylerini kolonize eden mikroorganizmalardır. Bu bakteriler, bitkiyle ilişkili diğer mikroorganizmalara kıyasla UV radyasyonu, sıcaklık dalgalanmaları ve nem değişimleri gibi ciddi çevresel dalgalanmalara maruz kalırlar. Yaprak yüzeyi; tüycükler (trikomlar), damarlar, hücre duvarı birleşim yerleri ve stomalar gibi çevresel zorluktan korunma sağlayan çeşitli mikroyaşam alanları sunar (Wagi ve Ahmed, 2017).

Endofitik bakteriler; yaprak, gövde, çiçek ve meyve gibi bitkilerin iç dokularını, konakçıya herhangi bir görünür zarar vermeden kolonize eden mikroorganizmalardır (Shukuru vd., 2024). Bu bakteriler, bitkilerle karşılıklı faydaya dayalı (mutualistik) ilişkiler kurar ve dış ortamdan korunaklı olmaları nedeniyle, filofitik bakterilere kıyasla daha güçlü konakçı seçilimi baskısına maruz kalırlar (Sanjenbam ve Agashe, 2024).

Yakın zamanda yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, bu iki bakteri topluluğu arasında temel farklılıkları ortaya koymuştur: Epifitik topluluklar daha fazla çevresel

dalgalanma ve sık göç ile karşı karşıyayken, endofitik topluluklar daha güçlü konakçı seçilimi ile karşılaşır, epifitik topluluklar genellikle daha yüksek mikrobiyal yük, zenginlik, çeşitlilik ve modülerlik sergilerken, endofitik topluluklarda bu özellikler daha düşüktür, endofitik topluluklar daha güçlü ağ stabilitesi gösterirken, epifitik ağlar daha yüksek karmaşıklık sergiler (Sanjenbam ve Agashe, 2024). Bitki kimliği, endofitik mantarları epifitik mantarlara kıyasla daha fazla etkiler; bu da iç dokularda konakçı seçiliminin daha güçlü olduğunu düşündürür (Yao vd., 2019).

Endofitik bakteriler, bitkilerin kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarına dayanıklılığını artırmada, fitohormon üretimi ve strese duyarlı genlerin indüklenmesi yoluyla önemli rol oynarlar (Al-Hawamdeh vd., 2024). Bakteriler ayrıca bitkilerin fizyolojik metabolizmasına ve besin döngüsüne katılım sağlarlar (He vd., 2024; Lakkannavar vd., 2024). Filosferik bakteriler ise çeşitli mekanizmalar aracılığıyla etkili biyokontrol ajanları olarak görev yaparlar: Antimikrobiyal bileşikler, enzimler ve sekonder metabolitlerin üretimi (Nahar vd., 2024), besin maddeleri ve kolonizasyon alanları için patojenlerle rekabete girerek kaynak yarışına katılmaları (Bigott vd., 2023; Xueliang vd., 2020), bitkinin savunma yollarını aktive etmeleri (Jiang vd., 2024). Son yıllarda yapılan çalışmalar, biyolojik kontrol etkinliğinin oldukça yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Örneğin, salatalık filosferinden izole edilen *Bacillus* türleri, *Colletotrichum orbiculare*'ye karşı güçlü antagonistik etkiler göstermiş; konsorsiyum halinde uygulandıklarında hastalık baskılama oranı %79,4'e kadar ulaşmıştır (Nahar vd., 2024).

Endofitik bakteriler, hastalık kontrolünde kendilerine özgü avantajlar sunar. Korunaklı nişlerde bulunmaları, biyolojik kontrol etkinliğinin uzun süre devam etmesini sağlar (Abbas vd., 2024; Ali vd., 2024; Serrão vd., 2024). Ayrıca, salisilik asit ve jasmonik asit yollarının aktive edilmesiyle bitkide bağışıklık yanıtlarını güçlendirirler (Abbas vd., 2024; Jiang vd., 2024). Bunun yanında alkaloidler, fenolik asitler ve terpenoidler gibi biyoaktif bileşiklerin sentezini gerçekleştirirler (Jaiswal vd., 2022; Serrão vd., 2024). Yapılan araştırmalar, hastalık baskısının filosferik bakteri topluluklarını önemli ölçüde yeniden şekillendirdiğini göstermektedir. Pirinç bakteriyel yaprak yanıklığı üzerine yapılan çalışmalarda, patojen enfeksiyonunun bakteri ağ yapısını daha karmaşık ve bağlantılı hale getirdiği, L-ornitin gibi bazı metabolitlerin yararlı mikroorganizmaların toplanmasını teşvik ederek hastalık

şiddetini %67,6'ya kadar azalttığı ortaya konmuştur (Jiang vd., 2024). Araştırmalar, epifitik ve endofitik topluluklar arasında belirgin taksonomik farklılıklar olduğunu tutarlı bir şekilde ortaya koymaktadır. Her iki topluluk da genellikle *Methylobacterium* ve *Sphingomonas* gibi baskın cinsleri paylaşıyor da, tür düzeyinde farklılık göstermektedir (Sanjenbam ve Agashe, 2024). Yüzey mikrobiyomlarında *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Enterobacteriaceae* üyeleri genellikle daha yüksek oranda bulunurken (Lakkannavar vd., 2024; Nahar vd., 2024; Xueliang vd., 2020), içsel (endofitik) topluluklar ise bitki iç ortamına uyum sağlamış daha özel cinsleri barındırmaktadır (Romero vd., 2014).

Epifitik topluluklar genellikle daha yüksek tür zenginliği ve çeşitlilik gösterir; bu durum alfa çeşitlilik olarak tanımlanır. Çevresel etkenler epifitik topluluklar üzerinde daha güçlü etkilere sahipken, endofitik topluluklar üzerinde konakçı etkisi daha baskındır; bu durum ise beta çeşitlilik kavramıyla açıklanır. Ayrıca, endofitik topluluklar, epifitik topluluklara kıyasla zaman içerisinde daha yüksek düzeyde yapısal kararlılık sergiler (Sanjenbam ve Agashe, 2024). Filosferik bakteriler, gelişmiş stres tolerans mekanizmaları, UV ışınlarına karşı koruma ve hızlı kolonizasyon yetenekleriyle öne çıkar (Bogas vd., 2014; Lakkannavar vd., 2024) Buna karşılık endofitik bakteriler, özel metabolit üretimi, bitki-mikroorganizma iletişiminin güçlendirilmesi ve sistemik etkilere sahip olmalarıyla dikkat çeker (Ali vd., 2024; Semenzato ve Fani, 2024; Serrão vd., 2024). Epifitik bakterilerin genellikle sağlıklı yaprakları hasta dokulara tercih ederek kolonize ettikleri gözlemlenmiştir (Nahar vd., 2024). Öte yandan, endofitik bakteriler daha güçlü konakçı özgülüğü sergiler ve evrimsel olarak konakçılarıyla daha yakın ilişkiler kurarlar (Semenzato ve Fani, 2024; Yuan vd., 2023).

1.3.2.2. Toprak ve Kök Bakterileri

Toprak ve kök mikrobiyomu, yeryüzündeki en karmaşık ve dinamik ekosistemlerden birini oluşturur ve bitki sağlığı, büyümesi ve tarımsal verimlilik üzerinde temel bir etkiye sahiptir. Bitki köklerini çevreleyen dar toprak bölgesi olan rhizosfer, karmaşık bitki-mikroorganizma etkileşimlerinin gerçekleştiği kritik bir arayüz olarak işlev görür (Chauhan vd., 2023). Bu mikrobiyal topluluk; bakteri, mantar, arkea ve diğer mikroorganizmalardan oluşur ve bitki kökleriyle besin döngüsü,

mineral alımının kolaylaştırılması ve toprak kökenli patojenlere karşı koruma gibi karmaşık ilişkiler kurar (Tharanath vd., 2024). Bu etkileşimlerin anlaşılması, sürdürülebilir tarım uygulamalarının geliştirilmesi ve sentetik tarım kimyasallarına olan bağımlılığın azaltılması açısından giderek daha önemli hale gelmiştir. Toprak mikrobiyotası olağanüstü bir çeşitlilik sergiler ve bu yapının bileşimi hem toprak türüne hem de bitki türüne bağlı olarak şekillenir (Chauhan vd., 2023). Toprak mikrobiyotası; mantarlar, bakteriler ve arkeler gibi çok çeşitli mikroorganizmaları içerir ve bu canlılar, farklı biyolojik etkili bileşiklere ve ekolojik rollere sahip çeşitli taksonomik grupları temsil eder (Alghofaili, 2025). Toprak ortamlarında baskın olan temel bakteri filumları arasında *Proteobacteria*, *Chloroflexi* ve *Bacteroidetes* yer alırken, baskın cinsler arasında ise *Geobacter*, *Sideroxydans* ve *Clostridium* bulunmaktadır (Liv d, 2023).

Azot bağlayan bakteriler, biyolojik azot fiksasyonu, mineralizasyon, çözünürleştirme ve besin mobilizasyonu yoluyla toprak verimliliğinde kritik roller üstlenirler (Alghofaili, 2025). Bu mikroorganizmalar, azot fiksasyonu ve besin çözünürleştirme gibi doğrudan mekanizmalar aracılığıyla bitki büyümesini desteklerler (Kaur, 2021). Arbusküler mikoriza mantarları (AMF), bitki kökleriyle simbiyotik ilişkiler kurarak besin alımını artırır ve stres toleransını güçlendirir. AMF'nin köklerdeki farklılaşması, bitki familyası ya da tür zenginliği düzeyinden ziyade, bireysel bitki türü düzeyinde gerçekleşir (Burrill vd., 2023). Kök nişleri, kökle ilişkili mikrobiyomun çeşitliliği ve topluluk bileşimi üzerinde önemli ölçüde etkilidir. Hem bakteri hem de mantar topluluklarında, belirleyici (deterministik) süreçler toprak–rhizosfer–kök sürekliliği boyunca kademeli olarak artış gösterir. Bakteri ve mantar arasındaki türler arası (interkingdom) etkileşimler rhizosferde anlamlı derecede daha fazladır; ayrıca, bu etkileşimler dökme (bulk) topraktan endosfere doğru ilerledikçe birlikte bulunma ağlarında pozitif ilişkiler giderek baskın hale gelmektedir (Che vd., 2023).

Mikrobiyom bileşimi, bitki gelişimi süresince dinamik olarak değişir. Bu durum buğdayda, vejetatif büyümeden başak oluşumuna geçiş evresinde hem kökle ilişkili hem de rhizosfer mikrobiyomları üzerinde belirgin etkiler göstermektedir (Samad vd., 2019). Kök salgılama (ekzudasyon) desenleri, bitkinin gelişim evresine bağlı olarak değişmekte; bu da mikrobiyal topluluğun yapısını ve işlevini doğrudan

etkilemektedir (Richardson vd., 2021) Kök salgıları, bitki-bitki ve bitki-rhizomikrobiyom etkileşimlerinin düzenlenmesinde hayati roller oynar. Bu salgılar, kök bölgesi çevresindeki mekânsal dağılımıyla rhizosfer mikroorganizmalarını güçlü bir şekilde etkileyen, çeşitli özgül sinyal bileşikler (primer ve sekonder metabolitler) içerir. Bu bileşikler, bitki ile mikroorganizmalar arasında uyumlu ve yakın etkileşimlerin oluşmasına aracılık eder (Mishra vd., 2022). Kök salgıları; şekerler, amino asitler, organik asitler, fenolik bileşikler ve uçucu organik bileşikler gibi çeşitli bileşenler içerir ve bu maddeler topraktaki mikrobiyal topluluk yapısını birlikte şekillendirir (Hiremath vd., 2024). Karbonhidratlar, fenolikler, organik asitler, amino asitler ve sekonder metabolitler gibi düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin yanı sıra, proteinler ve polisakkaritler gibi yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler de mikrobiyal beslenme ve sinyal iletim süreçlerine katkı sağlar (Afridi vd., 2023). Kök tarafından salgılanan sinyal molekülleri arasında etilen, strigolaktonlar, jasmonik asit, loliolid ve allantoin bulunur; bu bileşikler, bitkiler arası etkileşimlerde yerel çevre koşullarına ilişkin bilgiyi iletir. Bu kimyasallar bitkilerde yaygın olarak bulunur ve toprak altı sistemlerde hem türler arası hem de tür içi tepkileri tetikler (Wang vd., 2021).

Mikrobiyal sinyal molekülleri, oksin, sitokinin, giberellin, etilen ve absisik asit gibi fitohormonları da içerecek şekilde, bitki-mikroorganizma etkileşimlerinin düzenlenmesinde kritik roller üstlenir; bu sayede bitkinin çevresel stres faktörlerine karşı verdiği tepkiler modüle edilir (Tharanath vd., 2024). Bitkiler, fotosentezle sabitlenmiş karbon kaynaklarını salgılayarak, quorum sensing (yoğunluk algılama) taklit molekülleriyle ve flavonoidler ile toksinler gibi seçici sekonder metabolitlerle ilişkili mikroorganizmalarına sinyal iletirler (Kaur ve Sodhi, 2022)

Bitki büyümesini teşvik eden yararlı bakteriler (PGPB), fitohormon üretimi, azot fiksasyonu, besin çözünürleştirme ve siderofor üretimi gibi doğrudan mekanizmalar aracılığıyla bitki gelişimini destekler (Ajinde vd., 2024). Bu bakteriler, jeokimyasal besin döngülerine katılarak hem bitkilerin hem de toprak mikrobiyal topluluklarının besinlere erişimini belirler. Etkilenen temel besin maddeleri arasında makro besinler olan azot (N), fosfor (P), potasyum (K) ve kükürt (S) ile mikro besinler olan demir (Fe) ve mangan (Mn) yer alır (Etesami ve Adl, 2020).

Toprak mikroorganizmaları, bitki büyümesini destekleyen oksin ve giberellin gibi hormonal maddeler üretir (Alghofaili, 2025). PGPB'ler, başlıca bitki gelişimini

teşvik etme mekanizmaları kapsamında indol asetik asit, giberellinler, sitokininler, sideroforlar ve ACC deaminaz üretirler (Sarker vd., 2022).

Bacillus subtilis CNBG-PGPB-1 suşu, bakteriyel kemotaksi, triptofan üretimi, kükürt metabolizması ve besin alımını içeren karmaşık mekanizmalar aracılığıyla bitki gelişimini teşvik eder. Bu suş, triptofan metabolizmasına ait 15 gen ile organik asit biyosentezi ve kükürt metabolizmasına ait 20 geni bünyesinde barındırır (Lu vd., 2022).. Toprak, kök ve rhizosferde bulunan mikroorganizmalar, antibiyotik üretimi, uçucu organik bileşikler (HCN ve amonyak), enzim ve biyosüpfaktan üretimi, besin ve yaşam alanı için doğrudan rekabet ve indüklenmiş direnç mekanizmaları yoluyla bitkileri toprak kökenli patojenlere karşı korur (Ajinde vd., 2024). Çok sayıda mikroorganizma antagonistik aktiviteye sahiptir ve bitkileri toprak kaynaklı hastalıklara karşı savunur (Chauhan vd., 2023). PGPB'ler, toprak yapısını iyileştirerek, nem tutulumunu artırarak, mineral emilimini ve besin alımını destekleyerek bitkilerin hem biyotik hem de abiyotik streslere karşı dayanıklılığını artırır. Bu mikroorganizmalar, çeşitli enzimler ve metabolitler üreterek stres toleransı sağlar (Azam vd., 2023).

1.3.3. Fitohormonları Degrade Eden Bakteriler ve Mekanizmaları

1.3.3.1. Salisilik Asit Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri

Salisilik asit (SA), hem bir bitki hormonu olarak işlev gören hem de çeşitli aromatik kirleticilerin bakteriyel bozunmasında önemli bir ara bileşik olan yaygın bir aromatik bileşiktir (Mishra ve Baek, 2021) . Salisilik asidin bakteriler tarafından parçalanması, çevresel detoksifikasyon süreçlerinin kritik bir bileşenini oluşturur ve biyorafine (biyoremediasyon) uygulamaları açısından büyük önem taşır. Bu bozunma süreci, farklı bakteri türlerini ve gelişmiş enzimatik sistemleri içeren birden fazla metabolik yol üzerinden gerçekleşir.

Literatürde, mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen salisilik asit (SA) katabolizmasına ilişkin en az dört farklı yol tanımlanmıştır. Örneğin, *Pseudomonas* türleri, salisilat 1-hidroksilaz aracılığıyla SA'yı katekole dönüştürebilmektedir. Bu enzim, *salA* geni tarafından kodlanmaktadır (Cámara vd., 2007; Nascimento vd., 2021).

Özellikle *Pseudomonas putida* suşları oldukça iyi karakterize edilmiştir; *P. putida* R1 suşu, salisilatı meta yolak üzerinden parçaladığı gösterilen ilk suşlardan biridir (Chakrabarty, 1972). Birden fazla *P. putida* suşu, klasik NAH_2 operonunu içermeyen, bunun yerine *nahU*'ya benzer salisilat hidroksilaz genleri kullanan bozunma yollarını tercih etmektedir (Sazonova vd., 2008). Salisilat 1,2-dioksijenaz enzimi etkisiyle SA, doğrudan aromatik halka yarılmaması (ring fission) yoluyla parçalanmaktadır (Hintner vd., 2001; Nascimento vd., 2021).

Sphingomonas türleri, *Pseudomonas*'larda bulunan flavoprotein enzimlerinden farklı olarak, kendine özgü üç bileşenli salisilat hidroksilaz sistemlerine sahiptir (Jouanneau vd., 2007). Bu bakteriler, polisiklik aromatik hidrokarbonların (PAH) bozunmasında önemli rol oynar ve salisilat burada kilit bir ara ürün olarak görev yapar.

Streptomyces sp. suşu WA46, salisilatın parçalanmasında CoA-bağlantılı (CoA-mediated) özgün bir yolak kullanarak alışılmış yollardan belirgin şekilde ayrılan yeni bir yaklaşımı temsil eder (Ishiyama vd., 2004). Bu yolakta salisilat önce salisilil-CoA'ya, ardından gentisilil-CoA'ya dönüştürülerek metabolize edilir.

Ralstonia sp. U2 (günümüzde *Cupriavidus necator* olarak sınıflandırılmaktadır), salisilat 5-hidroksilaz enzimi ile SA'yı gentisata dönüştürür. Bu enzim, *nagGH* genleri tarafından kodlanmaktadır (Fuenmayor vd., 1998; Nascimento vd., 2021).

Streptomyces türleri ise SA'yı önce salisil-CoA'ya, ardından gentisata dönüştürmektedir. Bu süreçte iki enzim görev almaktadır: salisil-CoA sentaz ve salisil-CoA 5-hidroksilaz (Ishiyama vd., 2004; Nascimento vd., 2021).

Salisilik asidi parçalama yeteneğine diğer bakteri cinsleri; *Rhizobium* sp. XP suşu, salisilatın parçalanmasında CoA-bağlantılı bir yolak kullanır (Ke vd., 2023). *Pseudaminobacter salicylatoxidans*, salisilatı doğrudan 1,2-dioksijenaz enzimi aracılığıyla halkayı açarak parçalar (Hintner vd., 2001). *Acinetobacter lwoffii*, asetilsalisilik asidi salisilik asit aracılığıyla parçalayarak metabolize eder (Grant, 1971). *Moraxella* spp. MB1, salisilik asidi aromatik halkayı parçalamadan biyotransformasyona uğratır (Wahidullah vd., 2013).

1.3.3.1.1. SA Degradasyonunda Temel Metabolik Yollar ve Enzimler

Katekol Yolu (Orto-Kırılım Yolu): En yaygın yolak, salisilik asidin salisilat 1-hidroksilaz ile katekole hidroksillenmesini, ardından katekol 1,2-dioksijenaz orto-kırılımını içerir (Camara vd., 2007). Bu yol özellikle *Pseudomonas* türlerinde yaygındır ve şu temel enzimleri içerir; Salisilat 1-Hidroksilaz, salisilatı dekarboksilatıf hidroksilasyon yoluyla katekole dönüştüren enzimdir. *Pseudomonas* türlerinde genellikle flavoprotein yapısında olup, kofaktör olarak NADH veya NADPH gerektirir (Grant, 1971). Bu enzim geniş substrat özgüllüğüne sahiptir; metilsalisilatlar ve klorosalisilatlar dahil olmak üzere çeşitli salisilat türevlerini metabolize edebilir (Huabing vd., 2004) (Şekil 1.).

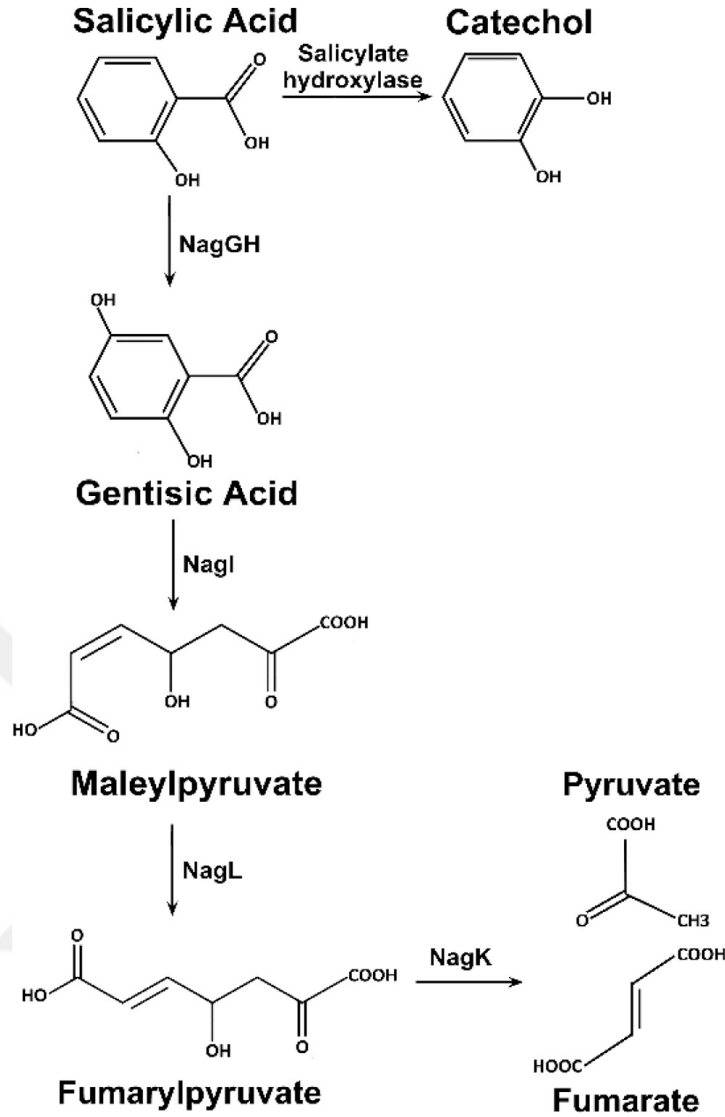
Katekol 1,2-dioksijenaz, katekolün aromatik halkasını parçalayarak cis,cis-mükonik asit oluşumunu sağlar. Bu ürün daha sonra β -ketoadipat yoluyla metabolize edilir (Camara vd., 2007).

Gentizat yolu, bazı bakteriler, Salisilat 5-hidroksilaz aracılığıyla salisilatın, gentizat (2,5-dihidroksibenzoik asit)'a dönüştürülmesini sağlar. Ardından gentisat 1,2-dioksijenaz ile aromatik halka parçalanır (Fang ve Zhou, 2014; Ohmoto vd., 1991). Bu yolak özellikle bazı *Pseudomonas* ve *Ralstonia* türlerinde önemlidir.

CoA-Bağlantılı (CoA-Mediated) yol ise, *Streptomyces* sp. suşu WA46'da keşfedilen özgün bir yolaktır. Bu süreçte salisilat önce salisilik-CoA ligaz (SdgA) ile salisilil-CoAya dönüştürülür, ardından salisilil-CoA 5-hidroksilaz (SdgC) ile gentisilil-CoAya hidroksillenir (Ishiyama vd., 2004). Gentisilil-CoA, kendiliğinden parçalanarak gentisat ve CoA'yı serbest bırakır.

Pseudaminobacter salicylatoxidans, salisilatı önceden hidroksillemeden doğrudan parçalayan, kendine özgü bir salisilat 1,2-dioksijenaz kullanır ve bu süreçte 2-oksohepta-3,5-dienedioik asit oluşur (Hintner vd., 2001).

Moraxella spp. MB1 gibi bazı bakteriler ise salisilik asidi aromatik halkayı parçalamadan, oksijen bağımlı dönüşümlerle fenol konjugatları ve hidroksisinamik asit türevleri üretir (Wahidullah vd., 2013).



Şekil 1. Bitki Hormonu Salisilik Asit'in (SA) salisilat hidroksilaz ve nag yolu ile Parçalanması (Qi vd., 2018).

1.3.3.1.2. Salisilik Asit Bozunmasını Etkileyen Çevresel Faktörler

SA degradasyonu genellikle nötr ile hafif alkali pH (7,0 – 8,0) aralığında ve mezofilik sıcaklıklarda (25–30 °C) en yüksek verimle gerçekleşir. Aşırı pH koşulları, enzim stabilitesi ve aktivitesini olumsuz etkileyerek bozunma etkinliğini ciddi şekilde düşürebilir. Bu bozunma yollarının çoğu, dioksijenaz ve monooksijenaz tepkimeleri için moleküler oksijen gerektiren aerobik süreçlerdir. Oksijen sınırlaması, bozunma hızını önemli ölçüde azaltabilir. SA'nın yüksek konsantrasyonları, substrat inhibisyonu etkisi göstererek bozunma verimliliğini düşürebilirken, genellikle 10–100 mg/L aralığındaki orta düzey konsantrasyonlarda optimal bozunma gözlemlenir.

Ortamda bulunan alternatif karbon kaynakları, katabolit baskılanması ya da ko-metabolik etkiler yoluyla salisilik asit bozunumunu etkileyebilir. Bazı çalışmalar, katekol veya ftalik asit gibi ara ürünlerin varlığında bozunmanın arttığını göstermiştir. Ayrıca yüksek tuzluluk ya da ağır metal kirliliği gibi çevresel stres faktörleri, hem bakteriyel büyümeyi hem de enzim aktivitesini olumsuz etkileyerek bozunma etkinliğini azaltabilir (Ghosal vd., 2016; Harwood ve Parales, 1996; Kumar ve Gopal, 2015; Patel ve Goyal, 2013)

1.3.4.1. 1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC)'ın ACC Deaminaz ile Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri

1-Aminosiklopropan-1-karboksilat (ACC) deaminaz, etilenin doğrudan biyosentetik öncüsü olan ACC'yi α -ketobütirat ve amonyak ürünlerine hidrolize eden bir enzimdir (Glick, 2014; Honma ve Shimomura, 1978; Singh vd., 2015) (Şekil 2.). Enzim ilk kez 1978 yılında *Pseudomonas* sp. ACP suşundan izole edilmiş; daha sonra *Pseudomonas chlororaphis* 6G5 (Klee vd., 1991) ve *Pseudomonas putida* GR12-2 (Jacobson vd., 1994) gibi farklı bakterilerden de elde edilmiştir (Honma ve Shimomura, 1978; Shrivastava ve Kumar, 2013). ACC deaminaz, *Penicillium citrinum* mantarında ve birçok bakteride tespit edilmiştir (Blaha vd., 2006; Belimov vd., 2007; Ma vd., 2003; Madhaiyan vd., 2006; Shrivastava ve Kumar, 2013). Enzimin sentezinden sorumlu olan *acdS* geni, *Azospirillum*, *Burkholderia cepacia* genomvars (PGPR, fitopatojenler ve fırsatçı insan patojenleri dahil) ve *Agrobacterium* türlerinde de bulunmuştur (Blaha vd., 2006; Shrivastava ve Kumar, 2013).

Bu mikroorganizmalar, ACC'yi tek azot kaynağı olarak içeren minimal besiyerinde büyüebilmeleriyle tanımlanmıştır (Belimov vd., 2007; Honma ve Shimomura, 1978; Ma vd., 2003; Shrivastava ve Kumar, 2013). Bitki büyümesini teşvik eden *Pseudomonas putida* GR12-2, ACC deaminaz sayesinde yeni oluşan kök ve sürgünlerdeki ACC seviyesini azaltarak kök uzamasını destekler (Glick vd., 1994; Shrivastava ve Kumar, 2013). Bu bakterinin ACC deaminaz aktivitesinden yoksun mutantlarının, gnoto-biyotik koşullarda kanola kök uzamasını teşvik etme yeteneğini kaybettiği bildirilmiştir (Glick vd., 1994; Shrivastava ve Kumar, 2013).

Bitki kök salgılarındaki ACC, bu bakteriler tarafından alınıp ACC deaminaz aracılığıyla parçalanır. Böylece rhizosferdeki dış ACC seviyesi düşerken, bu düşüşe

tepki olarak bitki daha fazla ACC salgılar. Sürekli parçalanan bu ACC, etilen üretiminin baskılanmasını sağlar. Özellikle su baskını gibi stres koşullarında artan etilen üretimi, bu mekanizma ile kontrol altına alınır (Abeles vd., 1992; Shrivastava ve Kumar, 2013). Etilenin aşırı üretimi kök ve sürgün gelişimini baskıladığı için, ACC deaminaz aktivitesine sahip bakteriler bitki gelişimini desteklemede önemli rol oynar.

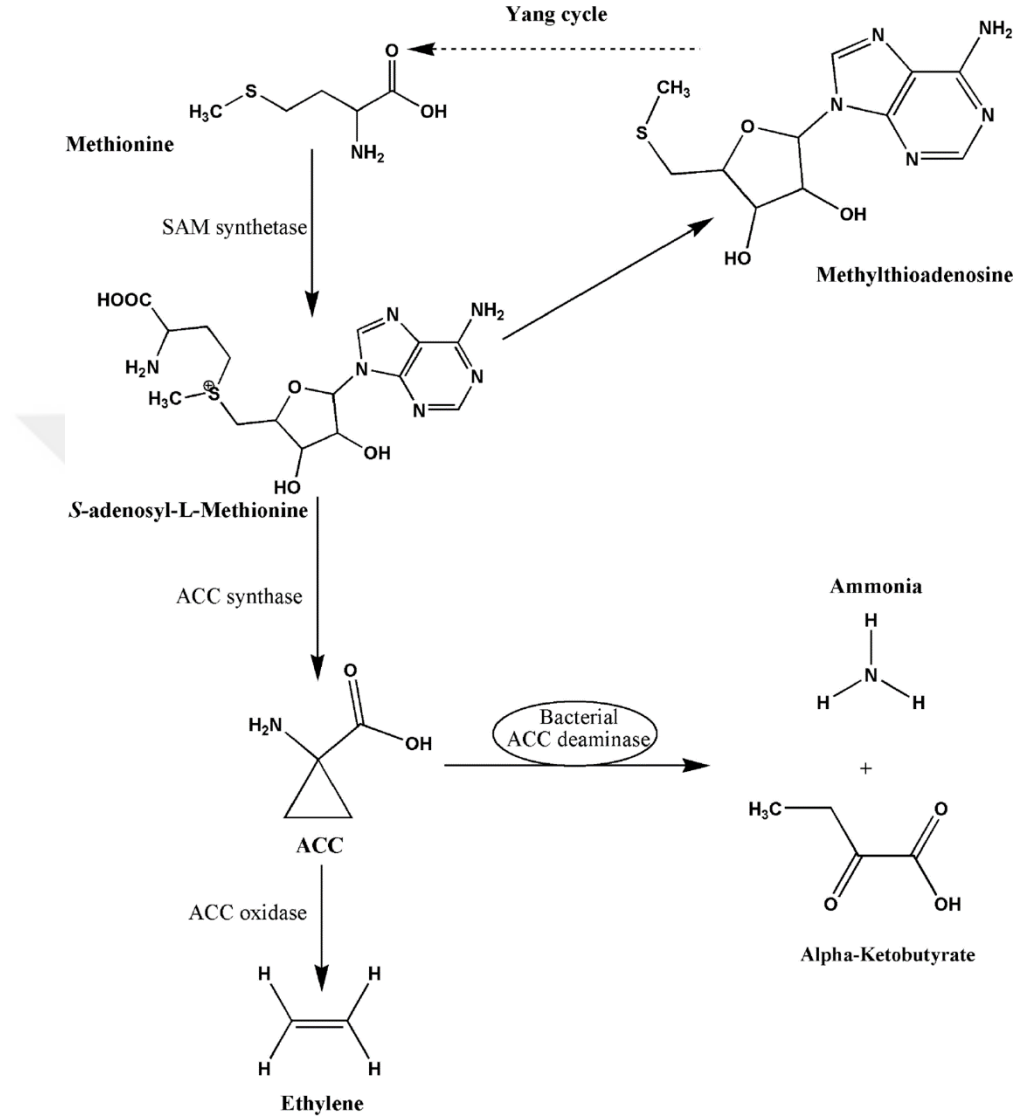
Bu enzime sahip bakteriler, rhizosfer gibi besin açısından zengin ortamlarda ekolojik avantaj sağlar (Shah vd., 1998; Shrivastava ve Kumar, 2013). Ayrıca *acdS* geninin yatay gen transferiyle farklı türler arasında taşınabildiği gösterilmiştir. Etilen üretiminin bu şekilde düzenlenmesi, stres koşullarında büyümeyi engelleyen olumsuz etkileri azaltmada kritik öneme sahiptir (Jacobson vd., 1994; Shrivastava ve Kumar, 2013).

Birçok tarım ve bahçecilik bitkisi, meyve olgunlaşması ve yaşlanma gibi süreçlerde etilen düzeyine karşı hassastır (Sisler ve Serek, 1997; Shrivastava ve Kumar, 2013). Bu nedenle bakteriyel ACC deaminaz, etilenin kontrolünde potansiyel bir biyolojik araç olarak değerlendirilmektedir. Bitki gelişimi; besinlerin mevcudiyeti, toprak özellikleri, bitki genotipi ve çevresel koşullar gibi çok sayıda faktörden etkilenir. Buna ek olarak tuzluluk, kuraklık, su baskını, aşırı sıcaklık, ağır metaller ve diğer toksik maddeler gibi abiyotik stres etmenleri, bitki gelişimini olumsuz etkiler (Gamalero ve Glick, 2012; Singh vd., 2015). Bu streslerin, birçok önemli tarım ürününde %50'nin üzerinde verim kaybına neden olabileceği tahmin edilmektedir (Boyer, 1982; Bray vd., 2000; Singh vd., 2015).

Bitkiler, bu stres koşullarına karşı hormon düzeylerini ayarlayarak çeşitli savunma tepkileri geliştirir. Bu süreçte öne çıkan hormonlardan biri etilendir. Ancak etilen üretimi belirli bir eşiği aştığında “stres etileni” olarak adlandırılan bir duruma yol açar; bu da kök ve gövde gelişimini baskılayarak büyümeyi sınırlar. Bu olumsuz etkinin azaltılması, ACC deaminaz sayesinde mümkün olabilir (Glick, 2007; Singh vd., 2015).

ACCd, substratı ACC'yi α -ketobütirat ve amonyağa hidrolize ederek etilen üretimini düşürür ve böylece bitki büyümesini teşvik eder (Glick, 2014; Honma ve Shimomura, 1978; Singh vd., 2015). Bu etki, indüklenmiş sistemik tolerans (IST) olarak adlandırılan bir savunma mekanizması ile ilişkilendirilmiştir (Singh vd., 2015;

Yang vd., 2009). Bu nedenle, ACCD aktivitesine sahip PGPB'ler, çevresel stres koşullarına karşı biyolojik bir çözüm sunmaktadır.



Şekil 2. Etilen biyosentez yolu ve ACC deaminaz üreten bakterilerin rolü. Bu yolda, SAM sentetaz metiyonini S-adenozil-L-metiyonin'e dönüştürür. Ardından ACC sentaz, SAM'ı ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat)'a çevirir. Bu reaksiyonda ayrıca metiltioadenozin (MTA) oluşur; MTA, bir dizi biyokimyasal reaksiyonla yeniden metiyonine dönüştürülür. Bu çok basamaklı yol, Yang döngüsü olarak da bilinir. ACC oksidaz, ACC'yi bitki hormonu etilene dönüştürür. ACC deaminaz üreten bakteriler, bitki köklerinden salgılanan ACC'yi amonyak ve α -ketobutirata hidrolize eder. PGPB (bitki gelişimini teşvik eden rhizobakteriler), stres koşullarında oluşan "stres etileni" seviyesini azaltır (Moon ve Ali, 2022)

1.3.4.2. Indol Asetik Asit (IAA) Degradasyonu ve Mikrobiyal Etkileri

İndol-3-asetik asit (IAA), bitkilerde doğal olarak bulunan en bol oksin türüdür ve hücre uzaması, kök gelişimi ve çeşitli fizyolojik süreçlerde kritik roller üstlenir (Nascimento vd., 2021). Mikroorganizmalar tarafından IAA üretimi üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olsa da, IAA'nın bakteriler tarafından parçalanması, bitki-mikroorganizma etkileşimlerinin aynı derecede önemli fakat daha az anlaşılmış bir yönünü temsil eder. IAA degradasyonu; besin kazanımı, bitki hormon dengesinin düzenlenmesi ve rhizosferde mikrobiyal topluluk dinamiklerinin modülasyonu gibi birçok ekolojik işlevi yerine getirir (Nascimento vd., 2021).

Bitkiyle ilişkili bakteriler arasında IAA'yı parçalama yeteneği yaygın olup, bu özellik bitki dokularındaki oksin seviyelerinin kontrol edilmesinde kilit bir mekanizma olarak öne çıkar (Wang ve Irving, 2011). Bu süreç, bakterilerin IAA'yı karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmasına olanak tanırken, aynı zamanda bitki büyümesi ve gelişimini etkileyen özel enzimatik yollar aracılığıyla gerçekleşir. Bu yollar, korunmuş gen kümeleri tarafından kodlanır.

Son dönemde yapılan sistematik çalışmalar, farklı ortamlarda IAA'yı parçalayabilen çok çeşitli bakteri taksonlarını tanımlamıştır. Wang ve arkadaşları (Wang ve Irving, 2011), *Arabidopsis* ve pirinç köklerinden izole edilen bitkiyle ilişkili bakteriler üzerinde kapsamlı bir tarama gerçekleştirmiş ve taksonomik olarak çeşitli izolatın 21'inin IAA bozunumu yeteneğine sahip olduğunu belirlemiştir. Bu IAA'yı parçalayan bakteriler, topraktan köke doğru artan bir kolonizasyon eğilimi göstermiş; bu da onların IAA üreten mikroorganizmalarla yakın ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Pek çok toprak ve bitkiyle ilişkili bakteri, IAA'yı katabolize edebilir ve onu tek azot ve karbon kaynağı olarak kullanabilir (Jensen vd., 1995; Leveau ve Lindow, 2005; Finkel vd., 2020; Nascimento vd., 2021). *Pseudomonas*, *Paraburkholderia*, *Enterobacter* ve ilgili türler genellikle IAA'yı katekole dönüştürür. Katekol-1,2-dioksijenaz tarafından parçalanarak katekol, *cis,cis*-mukonat'a dönüşerek β -ketoadipat yoluna yönlendirilir (Greenhut vd., 2018; Leveau ve Gerards, 2008; Nascimento vd., 2021). Bu yolda görev alan *Pseudomonas*, *Paraburkholderia* ve *Enterobacter* türlerine ait *iac* gen kümeleri tanımlanmıştır.

Öte yandan, *Bradyrhizobium diazoefficiens* USDA 110, IAA'yı isatinat'e parçalar ve ardından bu bileşiği antralinat'e dönüştürür (Jensen vd., 1995; Nascimento vd., 2021).

IAA parçalama yeteneği en iyi karakterize edilmiş bakteriler, çeşitli önemli cinsleri içermektedir. *Pseudomonas putida* suşu 1290, IAA bozunumu araştırmalarında model organizma olarak kabul edilir. Bu suş, IAA'yı tek karbon, azot ve enerji kaynağı olarak kullanabilmekte ve yalnızca IAA içeren ortamlarda büyüebilmektedir (Nascimento vd., 2021). Ayrıca bu suş, iac gen kümesinin tamamına sahip olup bu gen kümesinin işlevselliğini açıkça göstermektedir. *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN, bitki büyümesini teşvik edici özelliklere sahip, iyi çalışılmış bir diğer IAA parçalayıcı bakteridir (Nascimento vd., 2021). Bu suş, *P. putida*'dan farklı bir genetik organizasyona sahip olan iac gen homoloğu bölgeler taşımakta olup, IAA bozunma sistemlerinin çeşitliliğini ortaya koymaktadır. Çeşitli bitki rhizosferlerinden izole edilen çok sayıda *Enterobacter* suşunun IAA'yı parçaladığı belirlenmiştir. Bu bakteriler genellikle IAA bozunumu ile birlikte başka bitki büyümesini teşvik edici özellikler de sergiler. Yakın tarihli moleküler çalışmalar, *Variovorax* türlerinin IAA dönüşümünden sorumlu korunmuş oksin-degradasyon (adg) operonları taşıdığını göstermiştir (Laird vd., 2020). Bu bakteriler, rhizosfer kolonizasyonu ve kök gelişimi teşviki gibi ekolojik süreçlerde önemli roller oynar.

Son olarak, *Azoarcus evansii* KB740 (şu anda *Aromatoleum evansii* olarak sınıflandırılmaktadır), IAA'yı *iaa* gen kümesi aracılığıyla parçalar. Bu anaerobik yol, 2-aminobenzoil-CoA veya benzoil-CoA oluşumuna yol açar (Ebenau Jehle vd., 2012; Nascimento vd., 2021).

1.3.4.2.1. IAA Degradasyonunda Temel Metabolik Yollar ve Enzimler

Bakterilerin, N-heterosiklik bir bileşik olan indol-3-asetik asidi (IAA) yok etme yeteneği, uzun zamandır bilinen bir fenomendir (Laird vd., 2020; Libbert ve Risch, 1969; Mino, 1970; Proctor, 1958; Strzelczyk vd., 1973; Tsubokura vd., 1961). Ancak bu yeteneği destekleyen genler, özellikle bakterinin karbon ve enerji elde etmesine aracılık edenler, yakın geçmişe kadar tanımlanamamıştır (Ebenau-Jehle vd., 2012; Laird vd., 2020; Leveau ve Gerards, 2008). Bugüne kadar, IAA'nın katabolizmasına ilişkin iki farklı bakteri gen kümesi ayrıntılı olarak karakterize

edilmiştir: (i) IAA'nın katekole dönüştüğü aerobik bir yolu kodlayan *iad* gen kümesi (*indol-3-asetik asit katabolizması*) ve (ii) IAA'nın 2-aminobenzoyl-CoA'ya anaerobik dönüşümünü temel alan *iaa* gen kümesi (*indol-3-asetik asit bozulması*) (Şekil 3).

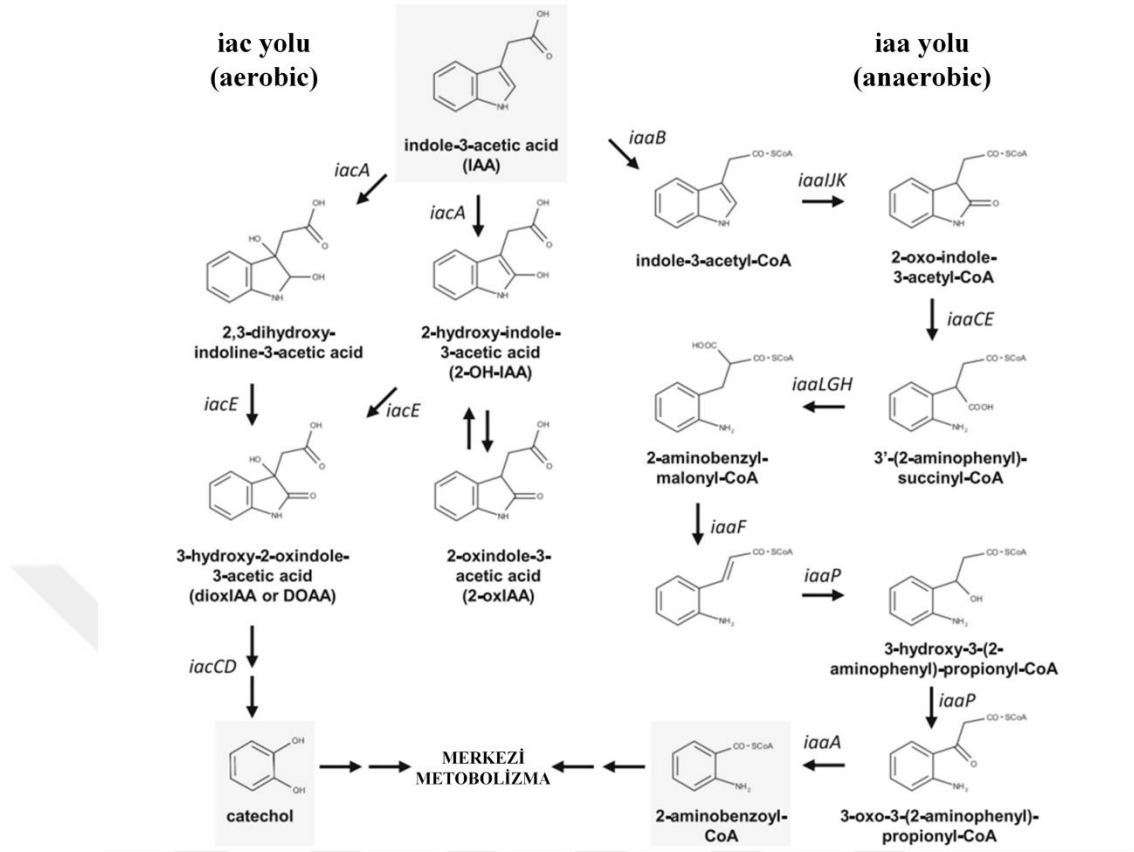
iad (indole-3-asetik asit katabolizması) gen kümesi, bakterilerdeki başlıca aerobik IAA bozunma yolunu temsil eder (Laird vd., 2020). Bu sistem, IAA'yı çeşitli ara bileşikler üzerinden katekole dönüştürür:

1. Başlangıç oksidasyonu: IAA, ilk olarak 2-oksoindol-3-asetik asit (Ox-IAA)'ya oksitlenir.
2. Hidroksilasyon: Ox-IAA, 3-hidroksi-2-oksoindol-3-asetik asit (DOAA)'ya dönüştürülür.
3. Aromatik halka kırılımı: DOAA, daha ileri işlemlerden geçerek katekol oluşumuna yol açar.
4. Merkezi metabolizma: Katekol, tam mineralizasyon için β -ketoadipat yoluna girer.

iad gen kümesi, aromatik halka hidroksilleyen dioksijenazlar, tautomerazlar ve taşıyıcı proteinler gibi çeşitli enzimleri kodlayan genlerden oluşur ve genellikle 8–10 gen içerir. Donoso vd., (2016), *Paraburkholderia phytofirmans*'ın bu yolak üzerinden IAA'yı parçaladığını ve katekolün anahtar ara ürün olduğunu göstermiş; ayrıca IAA ile büyüme sırasında katekol 1,2-dioksijenaz aktivitesinin indüklendiğini doğrulamıştır.

iaa gen kümesi, IAA'nın anaerobik koşullar altında 2-aminobenzoyl-CoA'ya dönüştürülmesini sağlar (Laird vd., 2020). Bu yolak, oksijenin sınırlı olduğu ortamlarda işlev görür ve anaerobik ortamlarda IAA kullanımına yönelik alternatif bir mekanizma olarak kabul edilir.

Yakın tarihli araştırmalar, IAA bozunumuna ilişkin yeni mekanizmalar da ortaya koymuştur. Ma vd., (2022), *Variovorax* türlerinde karakterize ettikleri yeni bir yolakta tanımlanan bileşenler şunlardır; AdgB (IAA'ya özgü bir ABC taşıyıcısı olarak) görev yapar, *AdgI* ve *AdgH*, birlikte çalışan bir Rieske tipi *hem* içermeyen dioksijenaz kompleksi oluşturur, AdgJ, FMN tipi bir redüktazı kodlar. Bu sistem, IAA'yı biyolojik olarak etkisiz olan 2-oksoindol-3-asetik asit (oxIAA)'ya dönüştürür.



Şekil 3. *iac* ve *iaa* gen kümeleri tarafından kodlanan IAA bozunma yolları. Her iki yolda da temel metabolitler ile ana reaksiyonlar ve bunlara karşılık gelen genler gösterilmektedir. Ayrıntılar için ana metne bakınız. *iac* tarafından kodlanan yolda, yolağın işleyişindeki rolleri bilinmeyen, kanıtlanmamış veya temel olmayan genler gösterilmemiştir. *iac* ve *iaa* gen kümeleri tarafından kodlanan yolların son ürünleri sırasıyla katekol ve 2-aminobenzoyl-CoA'dır. Bu ürünler, sırasıyla *catABC/pcaDIJ* ve *abmABCD* genleri aracılığıyla merkezi metabolizmaya yönlendirilir (Laird vd., 2020).

1.3.4.2.2. IAA Bozunmasını Etkileyen Çevresel Faktörler

Birden fazla çevresel parametre, IAA bozunma verimliliği ve mikrobiyal topluluk dinamikleri üzerinde etkili olmaktadır.

Ortamda bulunan alternatif karbon kaynakları, IAA bozunma hızını etkileyebilir. Bazı bakteriler, daha kolay kullanılabilen substratları tercih ederek, IAA metabolizmasına geçmeden önce bu kaynakları tüketir (Nascimento vd., 2021). Ayrıca, triptofan mevcudiyeti de mikrobiyal topluluklar içinde IAA üretimi ve bozunumu arasındaki dengeyi belirleyen önemli bir faktördür.

Oksijenin varlığı, hangi bozunma yolunun baskın olacağını belirler. Aerobik koşullar, katekol oluşumu ile sonuçlanan *iac* yolunu desteklerken; anaerobik ortamlar, 2-aminobenzoil-CoA üreten *iaa* yolunu teşvik eder (Laird vd., 2020).

Toprak pH'ı hem mikrobiyal topluluk yapısını hem de enzim aktivitesini etkiler. Pek çok IAA parçalayıcı bakteri, farklı pH aralıklarına tolerans göstererek çeşitli toprak tiplerinde işlev görebilir (Nascimento vd., 2019).

Kök salgılarının bileşimi, bitkinin gelişim süreci boyunca değişir ve bu durum IAA parçalayıcı bakterilerin toplanmasını ve aktivitesini doğrudan etkiler. Genç bitkiler, olgun bitkilere kıyasla farklı metabolit profilleri salgılayarak mikrobiyal IAA metabolizmasını farklı şekilde yönlendirebilir (Hu vd., 2025).

1.3.5. Fitohormon Degradasyonu Yapan Bakterilerin Biyoteknolojik Önemi

İndol-3-asetik asit (IAA), salisilik asit (SA) ve etilen (ET) öncülleri gibi fitohormonları parçalayabilen bakteriler, bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu bakteriler genellikle rhizosfer, endosfer ve fillosfer gibi bitkiyle ilişkili mikrobiyal habitatlarda bulunur ve bitki hormon düzeylerini düzenleyerek bitki-mikroorganizma etkileşimlerini şekillendirebilir ve bitki gelişimini teşvik edebilirler. Bu bakterilerin biyoteknolojik önemi, özellikle tarımda bitki büyümesini artırma, stres toleransını geliştirme ve fitoremediasyon uygulamalarında kullanım potansiyellerinden kaynaklanmaktadır.

SA degradasyonuna yönelik çeşitli bakteriyel yolların keşfi (Ishiyama vd., 2004; Lubbers vd., 2021; Wahidullah vd., 2013) aynı zamanda tarım topraklarında hormon dengesini korumaya yardımcı olacak mikrobiyal inokulantların geliştirilmesi gibi biyoteknolojik uygulamalara da kapı aralamıştır. Bu tür yaklaşımlar, kimyasal pestisitlere olan bağımlılığı azaltırken bitkilerin doğal savunma mekanizmalarının desteklenmesini sağlayabilir. SA'nın SAR (sistemik kazanılmış direnç) üzerindeki rolüne dair mevcut bilgiler, kapsamlı moleküler ve fizyolojik çalışmalarla güçlü bir şekilde ortaya konmuştur (Mishra ve Baek, 2021). Ancak, bitki hormon sistemleri ile toprak mikrobiyal toplulukları arasındaki karmaşık etkileşimler, özellikle tarımsal ortamlarda hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır. Fitohormonlara yönelik bakteriyel degradasyon yollarının çeşitliliği (Ishiyama vd., 2004; Lubbers vd., 2021; Wahidullah

vd., 2013), toprak mikrobiyal bileşiminin bitki bağışıklık yanıtları üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Yine de bu ilişki, ürün bazlı bağlamlarda daha ayrıntılı araştırmalara ihtiyaç duymaktadır.

IAA (indol-3-asetik asit) parçalayan bakteriler, dengeli bitki büyümesini teşvik etmek amacıyla biyogübre formülasyonlarına entegre edilmektedir. Hem IAA sentezleme hem de parçalama yeteneğine sahip olmaları, bitki hormonlarının hassas bir şekilde düzenlenmesine olanak tanır. IAA degradasyon yolları, biyoteknolojik uygulamalar için enzimatik araçlar sunmaktadır. Bu yolların parçası olan spesifik enzimler, bitki doku kültürlerinde hormon düzeylerinin düzenlenmesinde veya belirli metabolitlerin üretiminde kullanılabilir (Vega-Celedón vd., 2024). Bazı IAA parçalayan bakteriler, çevresel stres koşullarına tolerans gösterme ve kirletici maddeleri parçalama gibi ek yeteneklere de sahiptir. Bu özellikleri sayesinde biyoremediasyon uygulamaları için değerli mikroorganizmalardır (Vega-Celedón vd., 2016). IAA degradasyonu yapan bakterilerin sürdürülebilir tarım uygulamalarına entegrasyonu, kimyasal gübrelere alternatif sunarken toprak sağlığını ve bitki verimliliğini de destekler. Bu bakteriler, çevre dostu tarım yönetim sistemlerinin geliştirilmesine katkı sağlar (Etesami ve Glick, 2024).

Benzer şekilde ACC deaminaz üreten bakteriler, bitki büyümesini destekleyerek etilen seviyelerini düşürür; çünkü stres koşullarında yüksek etilen düzeyleri kök uzamasını ve genel bitki gelişimini engelleyebilir (Çakmakçı, 2009; Nascimento, 2018). Bu bakteriler, özellikle baklagillerde nodülasyon sürecini artırarak daha iyi kök gelişimi sağlar; bu da besin alımının ve bitki büyümesinin iyileşmesine neden olur (Esquivel-Cote vd., 2013; Nascimento, 2019). ACC deaminaz aktivitesi, bitki büyümesini teşvik edici özellikleriyle bilinen *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Rhizobium* gibi çeşitli bakteri türlerinde yaygın olarak görülmektedir (Çakmakçı, 2009; Gupta vd., 2022).

ACC deaminaz, stres kaynaklı etilen üretimini azaltarak bitkilerin tuzluluk, kuraklık ve ağır metal kirliliği gibi abiyotik streslere karşı dayanıklılık geliştirmesine de yardımcı olur (Kumari vd., 2016; Saghafi vd., 2020). ACC deaminaz aktivitesine sahip bakterilerin, bu streslere karşı bitki toleransını artırarak olumsuz çevre koşullarında biyokütle ve verimi yükselttiği gösterilmiştir (Gupta vd., 2022; Kumari vd., 2016). Bu enzim aynı zamanda bitkilerde antioksidan aktivitelerin

düzenlenmesinde de rol oynar ve bu sayede stres direncine ek katkı sağlar (Gupta vd., 2022). ACC deaminaz üreten bakteriler, patojen saldırıları sırasında sıklıkla yükselen etilen seviyelerini düşürerek çeşitli fitopatojenlere karşı biyolojik kontrol ajanı olarak da görev yapabilir. Bu bakterilerin, bitkileri bakteri ve mantar kaynaklı patojenlerden koruduğu, böylece hastalık görülme sıklığını azalttığı ve bitki sağlığını iyileştirdiği gösterilmiştir (Chernin ve Glick, 2012). ACC deaminaz üreten bakterilerin biyogübre olarak kullanımı, özellikle stresli çevre koşullarının hakim olduğu alanlarda sürdürülebilir tarım için umut verici bir strateji olarak değerlendirilmektedir (Esquivel-Cote vd., 2013; Kumari vd., 2016). Bu bakteriler, rhizosfere veya filosfere uygulanarak, doğrudan inokulasyon ya da tohum bakterilizasyonu yoluyla bitki büyümesini ve stres direncini artırabilir (Gupta vd., 2022; Herpell vd., 2023).

Genetik mühendisliği yaklaşımları da ACC deaminaz genlerinin bitkilere aktarılması yoluyla artan stres toleransı ve büyüme avantajları sağlanmasını araştırmıştır (Chernin ve Glick, 2012; Saghafi vd., 2020).

ACC deaminazın bitki büyümesini teşvik edici ve stres direncini artırıcı etkileri iyi belgelenmiş olsa da, bu bakterilerin yeni ekosistemlere tanıtılmasının ekolojik sonuçları dikkatle değerlendirilmelidir. Özellikle yatay gen transferi potansiyeli ve yerel mikrobiyal topluluklar üzerindeki etkiler göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca, ACC deaminaz aktivitesi bitki gelişimini destekleyen önemli bir özellik olmakla birlikte, bu etkiyi belirleyen tek unsur değildir; besin çözünürlüğü sağlama ve bitki hormonları üretimi gibi diğer mikrobiyal özellikler de bitki-mikroorganizma etkileşimlerinde önemli rol oynamaktadır (Çakmakçı, 2009; Raghuwanshi ve Prasad, 2018).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar, Sarf Malzemeleri ve Kitler

King B Medium (Condolab, 1532), α -Ketobutirik asit ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{CO}_2\text{H}$) (Sigma, K401), HCl (Merck, 1.00314.), NaOH (Merck, 1310-73-2), FeCl_3 (Merck, 1287612), Toluene ($\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$) (Merck, 108-88-3), Ninhidrin ($\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$) (AFG, 485-47-2), Na_2HPO_4 (AFG, 7558-79-4), NH_4Cl (AFG, 12125-02-9), K_2HPO_4 (Merck, 119989), CaCl_2 (Merck, 1016-5006), İndol-3-asetik asit (IAA) (Merck, 1.0053.0010), Yeast Extract (Biolife, 160430), Triptik Soy Agar (TSA) (Condolab, 306141), D-Glikoz (Bioshop, 4332676), Agar (Biolife, 180530), (2,4-Dinitrophenyl)hydrazine (DNPH) (CDH, 380720), Pepton (Merck, VM259239), Biotin (Merck, 4501), 1-aminosiklopropan karboksil asit (ACC) (Merck, A3903), Salislik Asit (SA) (Merck, 102683241), NaCl (Merck, K378523049), Tripton (Bioshop, TRP402.500), MgSO_4 (AFG, 147616-146), KH_2PO_4 (Merck, 7778-77-0), %60'lık Perklorik Asit (HClO_4) (Merck, 100518). Bio-One Microplate (Grainer, 655101), 50 mL'lik santrifüj tüpleri, 15 mL'lik santrifüj tüpleri, 1,5 mL santrifüj tüpleri, 90×17 mm Steril Petri (Isolab), 60×15 mm Steril Petri (Isolab). 22 μm steril PVDF şırınga ucu filitre (Millipore), High Pure PCR Product Purification Kit (Roche, 11 732 668 001), 24 Kuyulu Hücre Kültürü Plakası (Falcon, 353047), 96 Kuyulu Hücre Kültürü Plakası (Biofil, TCP011096).

2.2. Çalışmada Kullanılan Besiyeri, Tampon ve Çözeltilerin Hazırlanması

Hazırlanan tüm besiyeri ve tamponlar 121 °C'de, 1 atm basınçta 25 dk otoklavlanarak sterilize edildi. Ayrıca bakteri izolasyonu sırasında kullanılan pipet uçları, santrifüj tüpleri, cam tüp ve şişeler de aynı şekilde sterilize edilerek kullanıldı. Isıya dayanıksız çözeltiler ise 22 μm steril filitre kullanılarak ile sterilize edildi.

Temel M9 Minimal Besiyeri (1 L, 10×): 0,0423 M Na_2HPO_4 , 0,0220 M g KH_2PO_4 , 0,00856 M NaCl, 0,0187 M NH_4Cl (pH: 7.4).

Eser Element Çözeltisi: 0,25 mM CaCl_2 (1 M stok), 1 mM MgSO_4 (30 mM stok), %0,15 D-Glukoz (%50 stok), 0,3 $\mu\text{g/mL}$ Biotin (1 mg/mL stok). CaCl_2 ve MgSO_4 otoklavlanarak sterilize edildi. D-Glukoz ve biotin ise filitre ile sterilize edildi.

Eser elementleri İçeren M9 Besiyeri: Yukarıda verilen ölçülerde hazırlanan eser element karışımı, 1× M9 besiyeri ile karıştırıldı ve son hacim dH_2O ile 1 L'ye

tamamlandı. ACC deaminaz aktivite testlerinde kullanılan ortamlarda tek azot kaynağı olarak NH_4Cl yerine ACC kullanıldı. SA/IAA degradasyon aktivitesinde kullanılan ortamlarda ise tek karbon kaynağı olarak D-glukoz yerine SA veya IAA eklendi. Negatif kontrol ortamlarına azot ve karbon kaynağı eklenmedi.

Pseudomonas agar (King's B) (1 L): 100 µg/ml ampisilin ile üreticinin verdiği prosedüre göre hazırlanmıştır.

Tryptic Soy Agar (TSA) (1 L) : Üreticinin verdiği prosedüre göre hazırlanmıştır.

Zenginleştirilmiş LB (1 L): 10 g Tripton, 5 g Yeast Extract, 10 g NaCl, 10 gr D-Glukoz, 5 gr Peptone. D-Glikoz otoklav sonrası filter ile sterilize edilerek eklendi.

Tris-HCl (pH: 8,0): 0,1 mM Tris-HCl (pH 8,0) tamponu, Tris (Tris(hidroksimetil)aminometan, Sigma-Aldrich) kullanılarak hazırlanmıştır. 12,11 g Tris, analitik terazide tartılarak saf su içerisinde çözülmüştür. pH değeri, oda sıcaklığında 1 M HCl çözeltisi ile 8,0'a ayarlanmıştır. Son hacim saf su ile tamamlanmış,

Salkowski Reaktifi: 2 mL 0,5 M FeCl_3 , 49 ml dH_2O 'da çözüldü ve 49 ml %60 perklorik asidi içerisinde çözülerek hazırlandı

ACC Stok Çözeltisi: 0,3 M'lik stok ACC, ACC'nin dH_2O 'da çözülmesi ve filtre ile sterilize edilmesiyle hazırlandı. Hazırlanan küçük stoklar -20 °C'de saklandı.

SA ve IAA Stok Çözeltileri: SA (0.1 M) ve IAA (0.1 M) stokları, SA veya IAA'yı %80 su : %20 1 N NaOH (4:1, hacim/hacim) çözeltisinde seyrelterek hazırlandı. Hazırlanan bitki hormonları, daha sonra filtre ile sterilize edilerek, -20 °C'de saklandı.

α -Ketobütirat (α -Ketobütirik Asit): 0,1 M Tris-HCl (pH:8) içerisinde çözünerek hazırlandı.

%0,2 2,4-Dinitrofenilhidrazin: 2 N HCl içinde çözülerek hazırlandı.

2.3. Örneklerin Toplanması, Hazırlanması ve Muhafazası

Çay bitkisi ve toprağından fitohormon degrades etme yeteneğine sahip rhizosfer, filosfer ve endofitik bakterilerin izolasyonu amacı ile daha önce Nascimento vd., (2018) tarafından belirlenmiş olan prosedür minör modifikasyonlarla kullanılmıştır.

Fitohormon parçalama yeteneğine sahip çeşitli bakterilerin izolasyonu amacı ile örneklem alanı olarak, enzim aktivitesinin özellikle çevresel stres altında bulunan bitki mikrobiyomunda daha yoğun olması nedeni ile Rize İli civarında faaliyet gösteren fabrikalara yakın lokasyonlardaki çay bahçeleri seçilmiştir (Şekil 4.).



Şekil 4. Örneklerin toplandığı çeşitli lokasyonlar.

Bu amaçla belirlenen sekiz lokasyon ve örnekler Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Çalışmada İzole Edilen Bakterilerin Toplandığı Lokasyonlar ve Örnek Türleri

Fabrika	Konum	Örnek
Kalender Çay	Merkez/Güneysu/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Ada Çay	Adacami Mah./Güneysu/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Ay Çay	Adacami Mah./Güneysu/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Özgür Çay	Eski Camii Mah./Güneysu/ Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Örnek Çay	Küçük Camii Mah./Günysu/ Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Şimşek Çay	Taşlık Mah./Gündoğdu/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Veliköy Çaykur	Aktaş Mah./Merkez/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak
Gündoğdu Çaykur	Hamidiye Mah./Gündoğdu/Rize	Rhizosfer, kök, tohum, yaprak, toprak

2.4.1. Toprak Bakterileri

Örnekleme alanındaki çay bahçelerinin her birinden yaklaşık 200 mg toprak örneği 50 mL steril falkon tüplerine aktararak laboratuvara getirilmiştir ve hazırlık aşamasına kadar 4 °C’de (birkaç gün süreyle) muhafaza edildi. Hazırlık aşamasında örnekler 10 mL 30 mM MgSO₄ içerisinde 30 sn boyunca hafif vortekslelendikten sonra besi yerlerine ekim aşamasına kadar +4°C’de muhafaza edilmişlerdir. Hazırlanan tüpler, ekim aşamasından önce 24 saat boyunca 150 rpm’de oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 10⁻³ oranında seyreltilmiş, 10 mL 30 mM MgSO₄ içerisine aktarıldı ve minimal besiyerine ekildi.

2.4.2. Rhizosferik Bakteriler

Rhizosfer örnekleri, örnekleme alanındaki çay bahçelerinin her birinden seçilen üç ayrı çay bitkinin, bitki gövdelerini çevreleyen zemin yüzeyinin 5 ila 20 cm derinliğinden (rhizosferinden), alınmıştır. Buna göre; bitkiler topraktan köklerine zarar vermeden çıkarıldı, ardından kök bölgesi toprağını uzaklaştırmak için kökler hafifçe sallandı. Kök sistemine bağlı toprak steril pens yardımıyla uzaklaştırıldı ve rhizosfer toprağı, 30 mM MgSO₄ içeren steril bir 15 mL’lik santrifüj tüpüne aktarıldı. Ekim

aşamasından önce hazırlanan tüpler, rhizosferik toprak topraklarını parçalanması amacı ile 30 saniye boyunca vortekslendi.

Bitkilerden alınan kökler, toprak topraklarını ve rhizosferik bakterileri uzaklaştırmak için birkaç kez damıtık su ile yıkandı. Bu işlemi, kök sistemi toprak parçacıklarından tamamen arınana kadar tekrarlandı. Kesilen kök nodülleri önce 2 dk. boyunca %70 etanol ile ardından da %1 çamaşır suyu (10 dk), sterilize edildi ve steril dH₂O ile ardışık 5 yıkama ile durulandı. Yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilen kök nodülleri steril bir pens ile köklerden ayrıldı ve 500 µL 30 mM MgSO₄ içeren mikrosantrifüj tüpüne transfer edilerek steril bir pens yardımıyla dikkatli bir şekilde ezildi. Bu çözelti steril 30 mM MgSO₄ kullanılarak seyreltilerek (10^{-3}), +4 °C'de saklandı.

2.4.3. Kök, Yaprak ve Meyve Endofitleri

Bitkilere ait kök örnekleri, bitki köküne zarar vermeden topraktan çıkarılan bitki hafifçe silkelendikten sonra, köklerden steril bir bistüri ile kesilerek alınacak örnekler steril bir pens aracılığı ile 50 mL steril falkon tüplere aktarıldı. Örnekler laboratuvara getirildikten sonra, MgSO₄ solusyonuna aktarılmadan önce %70'lik etanolde 2 dk. sterilize edildi ve ardından steril dH₂O ile ardışık 5 yıkama ile durulandı. Daha sonra steril kök örneklerinin yaklaşık 5-10 cm'lik kısımları steril 10 mL 30 mM MgSO₄ içerisinde birkaç defa daldırılıp-çıkarıldıktan ve 10^{-3} oranında seyreltilmiş 1 mL 30 mM MgSO₄ içerisinde ezildi ve besi yerlerine ekim aşamasına kadar +4 °C'de saklandı (Şekil 5).



Şekil 5. Bitki dokularından alınan örneklerin hazırlanması.

Çay bitkilerinden alınan yaprak ve meyve kısımları steril bir bistüri yardımı ile kesildi ve sterilize edilmiş pens kullanarak 15 mL steril santrifüj tüplerine aktarıldı. Dokular kısa süreli olarak (en fazla birkaç gün) 4 °C’de muhafaza edildi. Yaprakların küçük kısımları (yaklaşık 2 cm) ve yaprak parçaları (yaklaşık 2 × 2 cm) steril bir bistüri ile kesildi. %70’lik etanolde 2 dk. sterilize edildi ve ardından steril dH₂O ile ardışık 5 yıkama ile durulandı. Dezenfeksiyon sonrasında dokuların küçük parçaları (yaklaşık 2 cm) 5 mL 30 mM MgSO₄ içeren steril 15 mL’lik santrifüj tüplerinde oda sıcaklığında, çalkalamalı (150 rpm) olarak gece boyunca inkübe edildi. 10⁻³ oranında seyreltilmiş 1 mL 30 mM MgSO₄ içerisinde, besiyerlerine ekim aşamasına kadar +4 °C’de saklandı.

2.5. Çeşitli Bitki ve Toprak Örneklerinden Fitohormon Parçalayıcı Bakterilerin Zenginleştirilmesi ve İzolasyonu

2.5.1. ACC Deaminaz Aktivitesine Sahip Bakterilerin İzolasyonu

ACC deaminaz aktivitesine sahip bakterilerin izolasyonu amacı ile, numune hazırlama bölümünde elde edilen ve +4 °C'de 30 mM MgSO₄ içerisinde saklanmakta olan 10⁻³ oranında seyreltilmiş örneklerin her birinden 10 µL alınarak, tek nitrojen kaynağı olarak ACC içeren (final konsantrasyonu 3 mM) 1 mL sıvı M9 minimal besi ortamına inoküle edildi. Yaklaşık 4-12 gün boyunca 150 rpm'de 28°C'de çalkalanarak inkübe edilen örnekler, bakteriyel büyümenin arttığı gözlemlendikten sonra (tipik olarak ~5 gün), 10 ila 20 µL bakteri süspansiyonu, 3 mM ACC içeren 5 ml minimal ortamda yeniden inoküle edilerek 4-12 gün boyunca 150 rpm'de 28°C'de çalkalanarak inkübe edildi. Son olarak, 10-20 µL bakteri süspansiyonu TSA ve King B agara yayma ekim yöntemi ile ekildi. Ekilen petriler, koloni oluşumu gözlenene kadar 28 °C'de yaklaşık 2-5 gün boyunca inkübe edildi. Elde edilen koloniler seçilerek zenginleştirilmiş LB besiyerlerine ekilerek büyütüldü ve enzim aktivite testleri öncesi tekrar TSA besiyerlerine ekildi. Daha sonra zenginleştirme aşamasına geçildi.

2.5.2. SA ve IAA Parçalama Aktivitesine Sahip Bakterilerin İzolasyonu

Örnek hazırlama bölümünde elde edilen çözeltilerden 10 µL, tek karbon kaynağı olarak 1 mM son konsantrasyonda SA veya IAA içeren 5 mL sıvı M9 minimal besiyerine inoküle edildi ve 28 °C'de orbital çalkalayıcıda (150 rpm) 4-12 gün boyunca inkübe edildi. Bakteriyel büyümede artış gözlemlendikten sonra (~7 gün), bakteri süspansiyonundan 10-20 µL alınarak, TSA ve 100 µg/mL ampicilin içeren King B agar'a yayma ekim yöntemi ile ekildi ve koloni oluşumu gözlenene kadar 28 °C'de yaklaşık 2-5 gün boyunca inkübe edildi.

Elde edilen koloniler seçilerek zenginleştirilmiş LB besiyerlerine ekilerek büyütüldü ve enzim aktivite testleri öncesi tekrar TSA besiyerlerine ekildi. Tüm enzim aktivite testleri, elde edilen saf koloniler ile gerçekleştirildi.

2.6. Bakteriyel Fitohormon Degradasyon Yeteneklerinin Doğrulanması

2.6.1. ACC Degradasyon Aktivitesi Gösteren Suşların Belirlenmesi

ACC'nin kalitatif parçalanması, izole edilen saf kolonilerin, azot kaynağı olarak ACC içeren M9 minimal besi ortamında büyüme yetenekleri açısından test edilmesiyle doğrulandı. Bunun için, ACC içeren ve negatif kontrol olarak hiçbir azot kaynağı içermeyen M9 besiyerlerine aynı koloniden ekildi. Tüpler 5 gün boyunca, 28 °C'de, 150–200 rpm'de inkübe edildikten sonra büyüme gözlemlendi. Büyüme, tüplerin OD₆₀₀'de spektrofotometrik olarak (M5 Spektramax) ölçülmesi ile değerlendirilerek karşılaştırıldı. Negatif kontrolde büyüme göstermeyen koloniler ACC deaminaz aktivitesi açısından pozitif olarak kabul edildi. Ek olarak ACC deaminaz aktivitesi, niceliksel olarak Penrose ve Glick (2003) tarafından tarif edilen yöntemin basitleştirilmiş bir versiyonu kullanılarak test edildi (Nascimento vd., 2018). Buna göre öncelikle ACC deaminaz aktivitesinin ekspresyonu aşağıdaki şekilde indüklendi;

a) ACC içeren M9 besi yerinde büyüme gösteren pozitif bakteriler tekrar TSA agar besi yerlerine aktarıldı ve elde edilen koloniler, 50 mL'lik santrifüj tüpünde 5 mL zenginleştirilmiş LB besiyerinde yoğun bir büyüme gözleninceye kadar, yaklaşık 24–72 saat boyunca, 28 °C'de, 150–200 rpm'de inkübe edildi.

b) İnkübasyon sürelerinin sonunda büyüme gözlenen 50 mL'lik santrifüj tüpleri, 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

c) Pellet, hiçbir azot kaynağı içermeyen 5 mL M9 minimal ortamında süspanse edilerek ve yıkandı. Daha sonra tekrar 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant atıldı.

d) Pellet, hiçbir azot kaynağı içermeyen 5 mL M9 minimal ortamında tekrar süspanse edildi ve 28 °C'de, 150–200 rpm'de 24-48 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tüpler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.

f) Elde edilen pellet 1 mL 0,1 M Tris-HCl (pH 8,0) içinde süspanse edin ve 1,5 mL'lik bir tüpe aktarıldı, 10000 rpm'de 1,5 dakika santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırıldı. Son olarak pellet 400 µL 0,1 M Tris-HCl (pH 8,0) içinde süspanse edildi.

Protein ölçümleri NanoDrop UV-Vis Spectrophotometer 2000 cihazında A280'da gerçekleştirildi.

2.6.1.1. ACC Deaminaz Aktivitesinin Doğrulanması

a) ACC deaminaz sitoplazmik bir enzim olduğu için (Jacobson vd., 1994) bir önceki adımda elde edilen hücre pelletine, hücre permeabilizasyonu için 20 µL toluen eklenerek, 30 saniye vortekslendi.

b) Lizat, 50 µL olacak şekilde 1,5 mL'lik santrifüj tüplerine dağıtıldı: İki tüp lizat + ACC (test örneği), iki tüp lizat ve ACC içermeyen (negatif kontrol) olarak hazırlandı. Ayrıca internal kontrol olarak, 50 µL 0,1 M Tris-HCl pH 8,0 + ACC içeren bir tüp de hazırlandı.

c) Her 1,5 mL'lik tüpteki 50 µl lizata (her örneğin negatif kontrolleri hariç) 5 µL 0,3 M ACC eklendi ve yaklaşık 5 saniye vortekslendi ve 30 °C'de 30 dakika inkübe edildi ve daha sonra 500 µL 0,56 M HCl eklenerek, yaklaşık 5 saniye vortekslendi ve 10.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi.

f) 0,1 M Tris-HCl pH 8,0 tamponunda çözülmüş 0,05–0,5 mM α-ketobütirat standartları hazırlandı. Hazırlanan standart ve süpernatanttan ayrı ayrı, 500 µL 13 × 100 mm boyutlarında cam deney tüplerine eklendi ve ardından 400 µL 0,56 M HCl ilave edildi.

2.6.1.2. α-Ketobütirat'tın Derivetizasyonu ve Kantifikasyonu

a) 150 µL DNP reaktifi eklendi ve yaklaşık 5 saniye vortekslendi.

b) 30 °C'de 30 dakika inkübe edildi.

c) 1 mL 2 N NaOH eklendi ve yaklaşık 5 saniye vortekslendi.

d) Her bir örnekten 96'lık plaka okuyuculara 3'er tekrarlı, 200 uL eklendi. 540 nm dalga boyunda ölçüldü. Kör (blank) olarak 50 µL Tris-HCl + 900 µl 0,56 M HCl + 150 µl DNP + 1 mL 2 N NaOH karışımını kullanıldı.

Her suş ve standart için üç teknik tekrar hazırlanarak ölçümLer gerçekleştirildi.

Standart eğri hazırlamak için 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 ve 0.50 mM α-ketobütirat çözeltileri hazırlandı. Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak yalnızca doğrusal aralık (0.10–0.50 mM) dikkate alınmış ve doğrusal regresyon analizi uygulanmıştır. Doğrusal regresyon sonucu $A = 0.026 + 0.94 \times C$ denklemi elde edilmiş ($R^2 = 0.992$) ve örneklerdeki α-ketobütirat konsantrasyonlarının hesaplanmasında bu denklem kullanıldı.

Her suş için ACC'li örnekten negatif kontrol çıkarılarak net absorbans elde edildi ve 0.10–0.50 mM aralığında kurulan standart eğri ($A = 0.026 + 0.94 \cdot C$, $R^2=0.992$) kullanılarak konsantrasyona (mM) çevrildi. Negatif çıkan değerler sıfıra eşitlendi. Spesifik aktivite, protein miktarına normalize edilip süreye ölçeklenerek hesaplandı. Spesifik aktivite, protein miktarına normalize edilip süreye ölçeklenerek hesaplandı: Aktivite= $\mu\text{mol } \alpha\text{-KB/mg protein/saat}$ ($\mu\text{mol mg}^{-1} \text{ sa}^{-1}$).

Protein konsantrasyonları her suş için önceden belirlenen mg/mL değerlerden hesaplandı (reaksiyon başına protein = mg/mL $\times$ 0.04 mL). İstatistikî analizler ve görselleştirme, R (v4.x) ile ggplot2 kullanılarak gerçekleştirildi.

2.6.2. SA ve IAA Parçalama Aktivitesi Gösteren Suşların Tespiti

Kalitatif SA ve IAA parçalanmasının, izole edilen bakterilerin (saf kültürler), tek karbon kaynağı olarak SA ve IAA içeren M9 minimal besi ortamda büyüme yetenekleri açısından test edilmesiyle doğrulandı. Bunun için IAA/SA aktivitesi gösteren tek kolonilerden alınarak, tek karbon kaynağı olarak 1 mM IAA/SA içeren 5 mL M9 minimal besi ortamına inoküle edildi. Aynı kolonilerden negatif kontrol hazırlanması amacı ile hiç karbon kaynağı içermeyen M9 minimal besi ortamında inoküle edildi. Bakteri süspansiyonları 28 °C'de, 150 rpm'de ~5 gün boyunca inkübe edildikten sonra OD₆₀₀'de spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile değerlendirilerek karşılaştırıldı. Negatif kontrolde büyüme göstermeyen koloniler IAA/SA aktiviteleri açısından pozitif olarak kabul edildi.

2.6.2.1. SA Parçalanmasının Doğrulanması

SA, UV ışığı altında floresan ışıma veren, floresan raporör substratlardandır (Nascimento vd., 2018). Bu özelliğine dayanarak SA aktivitesi kalitatif olarak UV ışığı altında belirlenebilmektedir. Bu amaçla, 1 mM SA ve %0,8 agar içeren M9 minimal besiyeriyerleri, 96 kuyulu opak plakalara 200 uL olarak dağıtıldı. Gecelik zenginleştirilmiş LB'de büyütülen suşları içeren kültürlerden 5 μL , plakanın kuyucuklarında yer alan katı besiyerlerinin merkezine gelecek şekilde 3'er tekrarlı olarak inoküle edildi. Plaka, 28 °C'de 24–48 saat inkübe edildikten sonra UV 330 nm dalga boyunda, translüminatörde kontrol edilerek aktivite doğrulandı.

2.6.2.2. IAA Parçalanmasının Doğrulanması

IAA bozunması, M9 minimal besiyeri ile hazırlanmış ve 1 mM IAA ile 0,8% agar içeren 24 ve 96 kuyulu opak plaklarda gerçekleştirildi. Bu amaçla her bir kuyucuğun ortasına, Gecelik zenginleştirilmiş LB'de büyütülen suşları içeren kültürlerden 5 µL inoküle edildi (çift veya üç tekrar olarak). Plakalar daha sonra 28 °C'de 24–48 saat inkübe edildi.

Aktivitenin kalitatif (niteliksel) tespiti ise, bakteri kültür ortamında IAA üretiminin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan Salkowski (Glickmann ve Dessaux, 1995) reaktifi kullanımı ile gerçekleştirildi. İnkübasyon ve üremenin ardından, her kuyucuğa 200 µL-1 mL Salkowski reaktifi eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat daha inkübe edildi. IAA'yı bozunması, Salkowski reaktifi eklenmesi sonrası oluşan renk değişimine bakılarak doğrulandı.

2.7. 16S rRNA Sekans Analizi ile Bakterilerin Tanımlanması

ACC deaminaz, SA ve IAA parçalanma aktivitesi doğrulanan suşların, türlerinin tespiti amacı ile; 16S rRNA dizi analizleri gerçekleştirildi. Bunun için, OneTaq Quick-Load 2X Master Mix with Standard Buffer (NEB) kullanılarak *Tm* 59°C'de, üreticinin verdiği prosedüre uygun koşullarda gerçekleştirilen PCR reaksiyonları sonucu 16S rRNA dizileri çoğaltıldı. Dizilerin çoğaltılmasında 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') ve 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') evrensel primerleri kullanıldı. PCR ürünleri %1'lik agaroz jel elektroforezinde (AGE) doğrulandıktan sonra temizlendi.

2.7.1. PCR Ürünlerinin Temizlenmesi

16S rRNA dizilerinin PCR ile çoğaltılması sonrası, ürünler dizilemeye gönderilmeden önce High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) ile temizlendiler. Öncelikle her bir 100 µL PCR ürününe 500 µL bağlama tamponu eklendi. Karışım kitle beraber gelen High Pure filitre membranlı kolonlara aktarıldı ve 14.000 rpm'de 60 s santrifüj edildi ve süzüntü atıldı. Daha sonra kolona 500 µL %70'lik EtOH eklendi ve 13.000 g'de 1 dk. santrifüj edildi ve süzüntü atıldı. Aynı işlem 200 µL %70'lik EtOH ile tekrarlandı. Son olarak 50 µL elisyon tamponu

eklenerek 13.000 g'de 1 dk. santrifüjün ardından, temizlenmiş olan PCR ürünleri, dizilemey gönderilinceye kadar +4 °C'de saklandı

Elde edilen amplikonlar Macrogen Europe BV firmasına gönderilerek dizilettirildi.

2.7.2. Biyoinformatik Analizler

Dizi analizleri SnapGene Viewer (v.7.2.1) ile gerçekleştirildi. Elde edilen diziler NCBI 'da BLAST algoritması kullanılarak taranarak en yüksek benzerlik gösteren diziler belirlendikten sonra, elde edilen sonuçlar EzBioCloud taraması ile doğrulandı ve bakterilerin muhtemel türleri tespit edildi. Bunun yanı sıra 16S rRNA gen dizileri, MEGA v.12.0.11 yazılımı kullanılarak MUSCLE algoritması ile hizalanmıştır. Filogenetik analizler, Kimura 2-parametre (K2P) modeli kullanılarak hesaplanan genetik mesafeler temelinde ve Maximum Likelihood (ML) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Düğüm güvenilirliği, 1000 bootstrap tekrarına dayalı olarak değerlendirilmiştir ve filogenetik ağaç oluşturulmuştur. Ağaçta referans olarak, her izolat için en yüksek dizi benzerliği gösteren türler seçilmiştir (Tablo 2.). Dış grup olarak *Bacillus subtilis* IAM 12118 seçilmiştir

Tablo 2. Filogenetik ağaç yapımında kullanılan bakteri türleri ve GenBank erişim numaraları

Bakteri Türü	GenBank Erişim No
<i>Acinetobacter seifertii</i> SR R-12	ON954519.1
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> YF28-1(7)	KT369845.1
<i>Acinetobacter pittii</i> CW-17	MG009235.1
<i>Burkholderia anthina</i> LMG 22950	CP162532.1
<i>Burkholderia diffusa</i> PvR012	OR754735.1
<i>Burkholderia ambifaria</i> AMMD	CP000440.1
<i>Burkholderia cepacia</i> G3	KF493889.1
<i>Burkholderia metallica</i> PR-05	KX082853.1
<i>Burkholderia cenocepacia</i> VC7848	CP019668.1
<i>Burkholderia arboris</i> PN-1	CP109821.1
<i>Burkholderia lata</i> m2-3	MT305806.1
<i>Burkholderia stabilis</i> HBT20	MG571704.1
<i>Burkholderia diffusa</i> PvR012	OR754735.1
<i>Burkholderia anthina</i> LMG 22950	CP162532.1
<i>Pseudomonas fluorescens</i> MW1	MW647768.1
<i>Pseudomonas koreensis</i> NFS-STR-2	MF079350.1
<i>Pseudomonas umsongensis</i> Kt3-26	JF460748.1
<i>Pseudomonas putida</i> A7-10	EF690402.1
<i>Pseudomonas aurantiaca</i> B23	EU169169.1
<i>Pseudomonas rhodesiae</i> S4.1.1	OK284943.1
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 12118	NR_112116

2.7.3. Elde Edilen 16S rRNA Dizilerinin NCBI GenBank’A Sunumu

12 suşa ait 16S rRNA dizisi GenBank’a sunuldu. Diziler FATA formatında GenBank veri tabanına “BankIt” arayüzü kullanılarak yüklenmiş ve erişim (aksesyon) numaraları alınmıştır.



3. BULGULAR

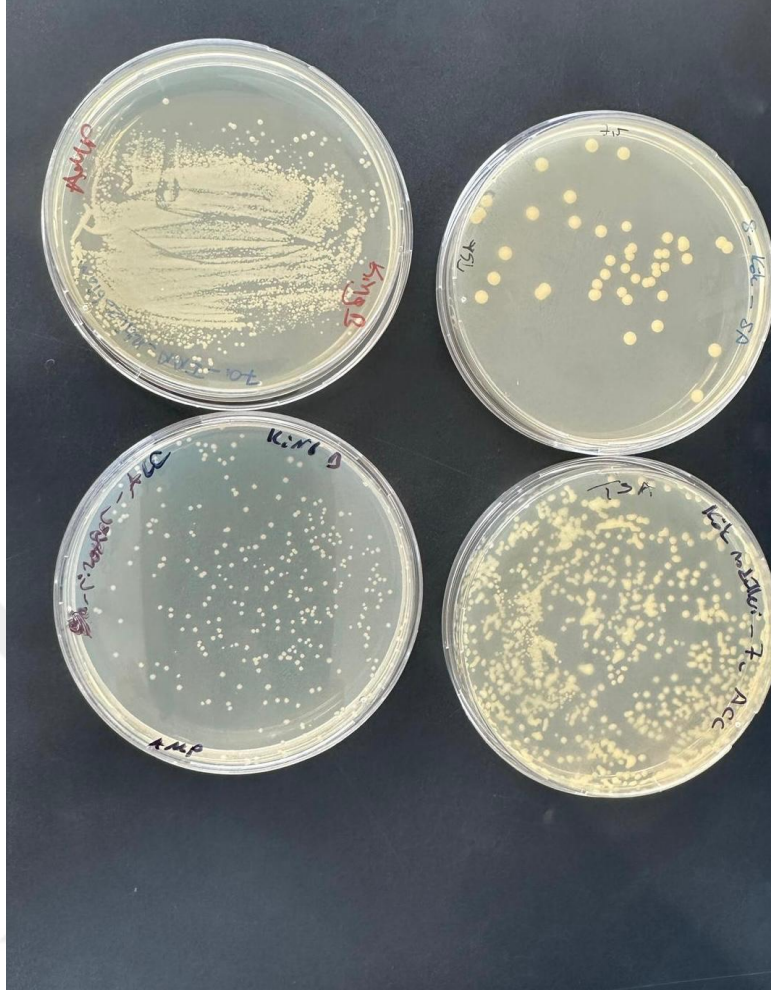
3.1. İzole Edilen Bakteri Sayısı ve Kaynakları

Çalışma kapsamında, Rize ili ve çevresindeki sekiz farklı çay bahçesinden toprak, rhizosfer, kök, yaprak ve meyve örnekleri toplanmış ve fitohormon parçalama yeteneğine sahip potansiyel bakteri suşları izole edilmiştir. Her lokasyondan 2’şer adet çay bitkisi seçilerek, bu bitkilere ait toprak, rhizosfer, kök, yaprak ve meyve örnekleri alınmıştır (Şekil 8.).



Şekil 6. Çay bitkilerinden rhizosfer, kök ve doku örneklerinin saha koşullarında toplanması. Numuneler, eldiven ve steril makas/pens kullanılarak bitki kök bölgesinden (5–20 cm derinlikten) alınmış, köklere tutunan toprak dikkatlice kazınarak steril tüplere aktarılmıştır.

Örnekler iki tekrarlı olacak şekilde alınmış ve toplamda yaklaşık 192 numuneden 122 bakteri izolatu elde edilmiş olup, bu izolatların 48’i toprak örneklerinden, 41’i rhizosfer örneklerinden, 26’sı kök endofitlerinden, 1’i yapraklardan ve 5’i meyve örneklerinden izole edilmiştir.



Şekil 7. Hormon içeren M9 minimal besiyeri ortamında büyütülen kültürlerin, TSA ve King B besiyerlerine ekilmesi sonucu koloni oluşumu gözlenen petriler.

Lokasyon bazlı değerlendirmede, en yüksek izolat sayısı Özgür Çay fabrikası çevresindeki örneklerden elde edilirken, en düşük izolat sayısı Veliköy Çay fabrikası çevresinde kaydedilmiştir (Şekil 6).



Şekil 8. Fitohormon içeren M9 minimal besiyeri ortamında büyüme gözlenen tüpler.

Elde edilen izolatların tümü enzim aktivite testleri (ACC deaminaz, SA ve IAA parçalama) ile değerlendirilmiş, pozitif sonuç verenler moleküler tanımlama aşamasına alınmıştır. Tablo 2’de izolatların kaynaklara ve lokasyonlara göre dağılımı verilmiştir.

Tablo 3. İzole edilen bakteri suşlarının lokasyon ve örnek türüne göre dağılımı.

Lokasyon/Fabrika Adı	Toprak	Rhizosfer	Kök ve Kök Nodülü	Yaprak	Meyve	Toplam
Kalender Çay	2	8	5	-	-	15
Ada Çay	5	4	3	1	1	14
Özgür Çay	4	9	4	-	3	20
Örnek Çay	6	4	6	-	-	17
Şimşek Çay	10	2	3	-	-	15
Veliköy Çaykur	9	2	-	-	-	11

Tablo 4(Devamı). İzole edilen bakteri suşlarının lokasyon ve örnek türüne göre dağılımı.

Gündoğdu Çaykur	7	1	3	-	1	12
Ay Çay	5	10	3	-	-	18
Toplam						122

3.2. ACC Deaminaz Aktivitesi Gösteren İzolatlar

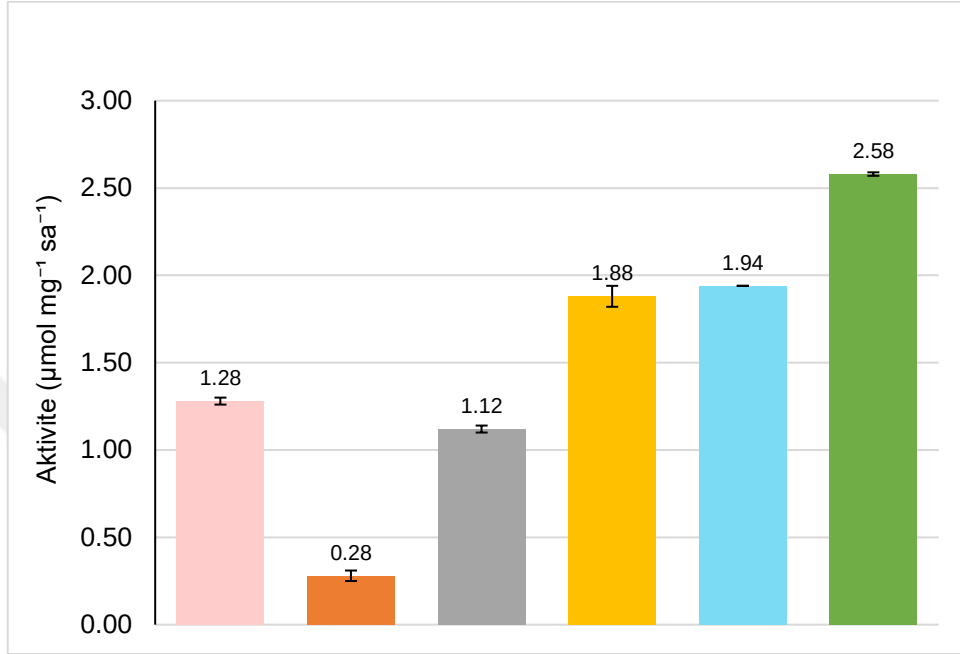
İzole edilen toplam 62 bakteri suşu, azot kaynağı olarak yalnızca ACC içeren M9 minimal besiyerinde büyüme yetenekleri açısından değerlendirilmiştir. Yapılan kalitatif ön tarama sonucunda, 36 suşun ACC varlığında büyüme gösterdiği, negatif kontrol ortamında ise büyüme gözlenmediği tespit edilmiştir. Ancak mevcut proje imkanlarının yetersizliği nedeni ile kalan 26 suşta kalitatif ön değerlendirme yapılamamıştır. Enzim aktivitesinin doğrulanması ise gene aynı nedenlerden dolayı yalnızca 6 suş ile gerçekleştirilebilmiştir. Kalitatif değerlendirme sonucu 5 suşta ACC deaminaz aktivitesi tespit edilmiştir (Şekil 9.)



Şekil 9. ACC deaminaz aktivitesinin ölçümünün (kalitatif) gösterimi
A) ACC deaminaz aktivitesi negatif tüp. B) Yüksek ACC deaminaz aktivitesi gözlemlenen tüp.

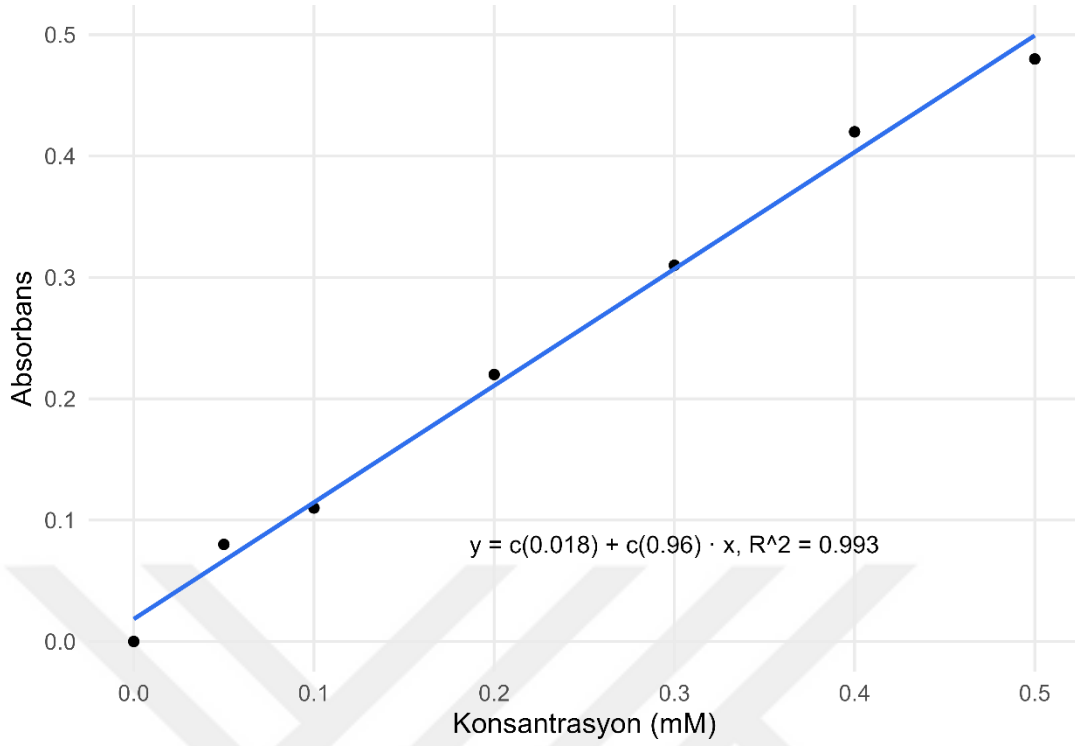
Pozitif olduğu tespit edilen suşlar, kantitatif ACC deaminaz aktivite analizine tabi tutulmuştur. Analizlerde, ACC parçalanması sonucu oluşan α -ketobutirat miktarı spektrofotometrik olarak 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlara

göre, en yüksek ACC deaminaz aktivitesi 6RACC-2 suşunda, 2,58 $\mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutirat/mg protein/saat}$ olarak belirlenmiştir (Şekil 10.). Bu suş Örnek Çay Fabrikası lokasyonunda bulunan çay bahçesi rhizosferinden izole edilmiştir.



Şekil 10. Farklı bakteri suşlarının ACC deaminaz aktiviteleri (ortalama $\pm$ standart sapma, $n = 3$). Aktivite değerleri, 540 nm’de ölçülen α -ketobutirat miktarının standart eğri ile hesaplanması, protein miktarına normalize edilmesi ve yarım saatlik ölçümün saatlik değere dönüştürülmesi ile elde edilmiştir. Ölçümler $\mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutirat/mg protein/saat}$ olarak ifade edilmiştir.

Farklı izolatlardan elde edilen aktivite düzeyleri karşılaştırıldığında, 0-2,58 $\mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutirat/mg protein/saat}$ aralığında aktiviteler gözlenmiştir. Bu varyasyonun, bakteri tür farklılıklarından veya izolatların ekolojik çevrelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. α -ketobutirat’a ait standart eğri Şekil 11.’de verilmiştir.

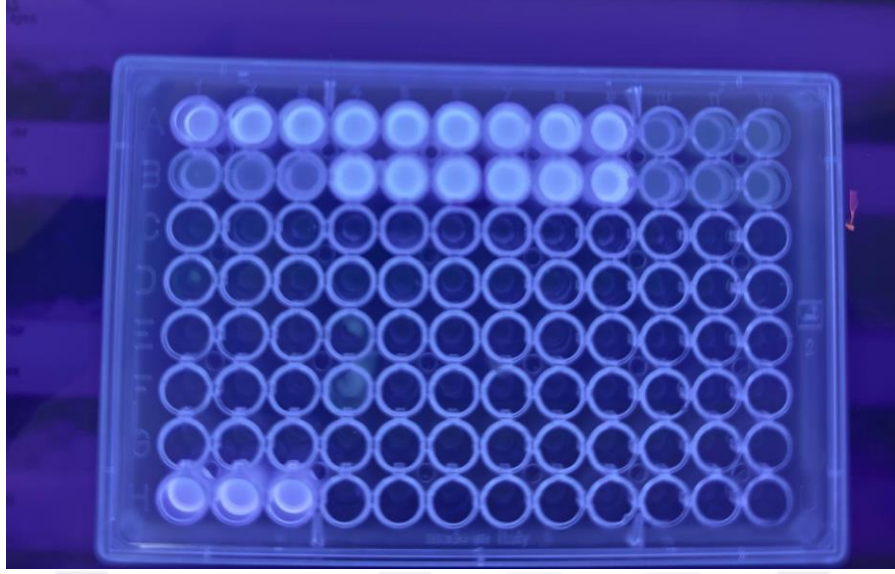


Şekil 11. *α-Ketobutyrate standart eğrisi.* Farklı konsantrasyonlardaki *α-Ketobutyrate* çözeltilerinin absorbans değerleri (540 nm), doğrusal regresyon analizi ile modellenmiştir.

3.3. Salisilik Asit (SA) Degradasyon Aktivitesi

Çalışmada izole edilen tüm bakteri suşları, tek karbon kaynağı olarak SA içeren M9 minimal besiyerinde büyüme yetenekleri açısından test edilmiştir. Yapılan kalitatif ön tarama sonucunda, toplam 11 izolat SA varlığında büyüme göstermiş, negatif kontrol ortamında (karbon kaynağı eklenmemiş) ise büyüme gözlenmemiştir.

Pozitif olarak belirlenen izolatlar, aynı koşullarda tekrarlanan testler ile doğrulanmıştır. Buna göre 11 suştan 7'sinde SA degradasyon aktivitesi, UV altında SA parçalama kabiliyetine sahip suşları içeren kuyucuklarda floresan ışımanın azalması veya tamamen kaybolması ile tespit edilmiştir (Şekil 12.).



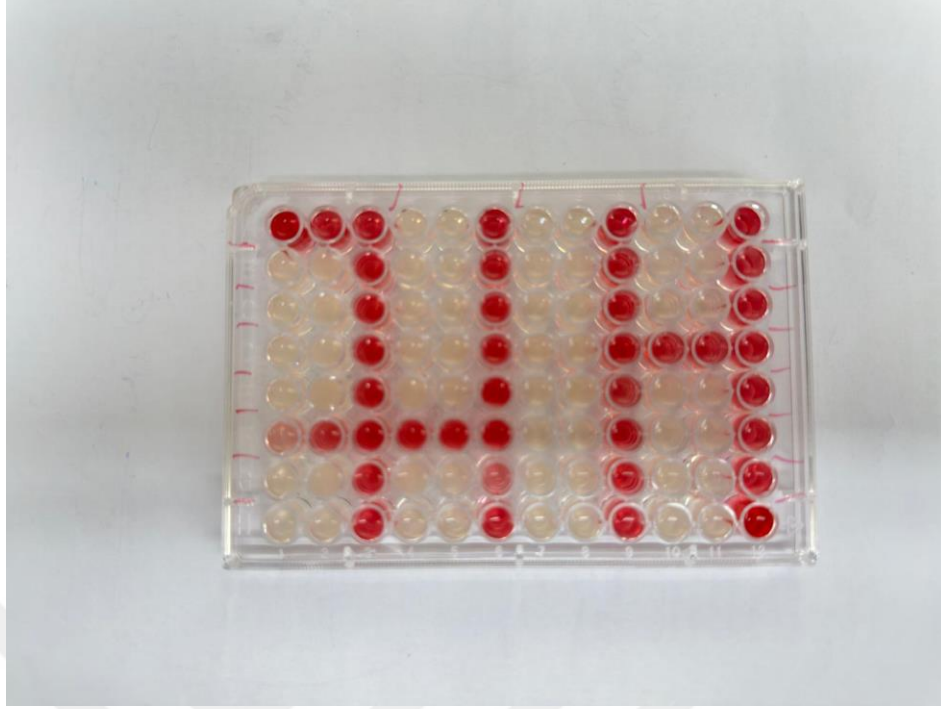
Şekil 12. 1 mM SA içeren M9 minimal besiyerinde SA degradasyon aktivitesinin UV transillüminatörde gösterimi. (A) 10–12 ve (B) 1–3 ile 10–12 numaralı kuyular, pozitif suşları içermektedir.

Elde edilen sonuçlar, SA parçalama aktivitesi gösteren izolatların, diğer fitohormonlar olan ACC veya IAA'yı parçalama kapasitesine sahip olmadığını ortaya koymuştur. Bu durum, SA degradasyon yeteneğinin incelenen izolatlar arasında bağımsız bir özellik olabileceğini düşündürmüştür.

3.4. İndol-3-Asetik Asit (IAA) Degradasyon Aktivitesi

Çalışmada izole edilen tüm bakteri suşları, tek karbon kaynağı olarak IAA içeren M9 minimal besiyerinde büyüme yetenekleri açısından değerlendirilmiştir. Yapılan ön tarama sonucunda, toplam 47 izolatın IAA varlığında büyüme gösterdiği, negatif kontrol ortamında (karbon kaynağı eklenmemiş) ise büyüme gözlenmediği tespit edilmiştir.

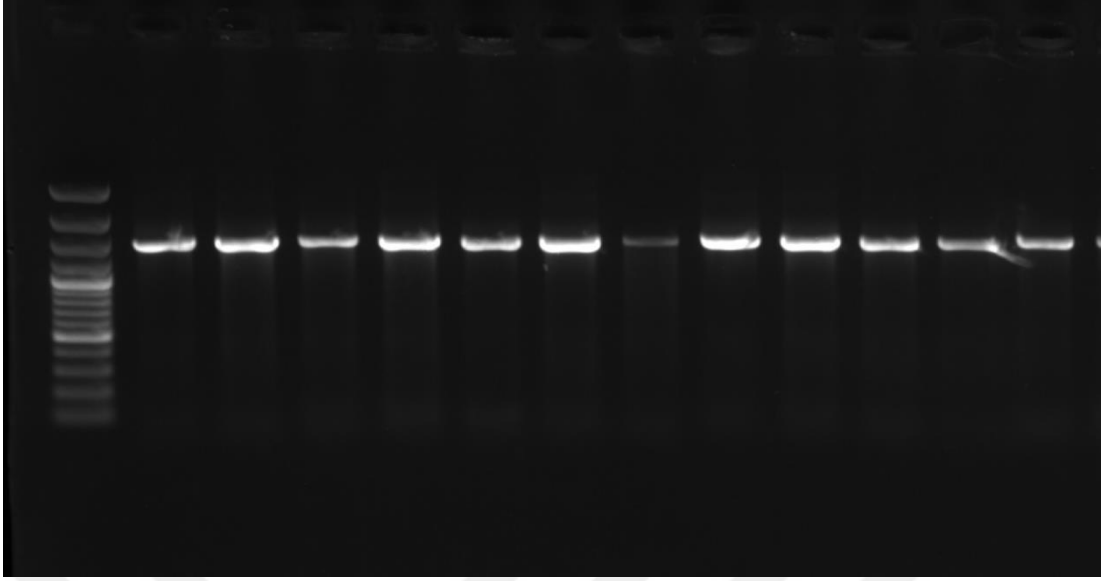
IAA parçalama aktivitesi pozitif olarak belirlenen izolatlarda, Salkowski reaktif eklenmesi sonrası kuyularda gözlenen renk değişimi ile toplam 36 suшта IAA degradasyon aktivitesinin varlığı doğrulanmıştır. Pozitif suşlarda besiyeri rengi değişmezken, negatif suşlarda renk koyu pembeye/kırmızıya dönüşmüştür (Şekil 13.).



Şekil 13. Karbon kaynağı olarak 1 mM IAA içeren M9 minimal agar besiyerinde büyütülen bakterilerin IAA parçalama yeteneklerinin belirlenmesi. Pembe/kırmızı renk (negatif), Salkowski reaktifi ile parçalanmayan indol-3-asetatın kompleksleşmesini gösterir. Renk oluşmaması ise (pozitif), ortamda IAA'nın bakteriler tarafından parçalandığını göstermektedir.

3.6. 16S rRNA Analizi ile Tür Tanımlaması

IAA, ACC ve/veya SA parçalama aktivitesi gösteren seçilmiş 12 izolatın tür düzeyinde tanımlanması amacıyla 16S rRNA gen bölgesi dizileme analizi yapılmıştır. Bu amaçla izolatların genomik DNA'sı izole edilmiş ve 27F/1492R evrensel primer çifti kullanılarak yaklaşık 1500 bp'lik 16S rRNA gen bölgesi PCR ile çoğaltılmıştır. PCR amplifikasyonu sonrası elde edilen ürünler, %1,0 agaroz jel elektroforezi (AGE) ile yürütülerek bant boyutları ve kalitesi doğrulanmıştır (Şekil 14.). PCR ürünleri 27F primeri kullanılarak Sanger dizileme yöntemi ile sekanslanmış, elde edilen diziler NCBI BLASTn aracı kullanılarak GenBank veritabanındaki referans dizilerle karşılaştırılmıştır. Bunun yanı sıra EzBioCloud veri tabanı ile karşılaştırılarak en yüksek benzerlikteki türler tespit edilmiştir.



Şekil 14. 27F/1492R evrensel primerleri kullanılarak çoğaltılan yaklaşık 1500 bp’lik 16S rRNA gen bölgesinin agaroz jel elektroforezi görüntüsü. İlk kuyda (sol baş) 100 bp (GeneRuler, SM0241, Thermo Scientific) DNA standardı yer almaktadır.

Analizler sonucunda izolatların büyük çoğunluğunun, Proteobacteria filumuna ait türlerle yüksek düzeyde benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatlar taksonomik olarak ağırlıklı olarak Gammaproteobacteria (ör. *Acinetobacter*, *Pseudomonas*) ve Betaproteobacteria (ör. *Burkholderia*) sınıflarında yer almaktadır. Tür tayini kapsamında değerlendirildiğinde SA degradasyon aktivitesi doğrulanan suşlardan biri olan RTEU-7AR4 suşu en yüksek sorgu kaplama oranı ve %84,72 benzerlikle *Alcaligenes faecalis* BKOU-13’e yakın olduğu görülmüştür. Bununla beraber ilgili 16S rRNA dizisi, çok kısa (~515 bp) bir fragman olduğundan (sorgu kaplama oranı $\leq$ %13) ve en yakın benzerlikler farklı filumlara dağıldığından güvenilir taksonomik atama yapılamamıştır. SA degradasyon aktiviteleri bulunan diğer iki suştan RTEU-7AR2b suşu, %96, 77 ile *Acinetobacter calcoaceticus* YF28-1(7)’e RTEU-2T2 suşu ise %95,91 ile *Burkholderia diffusa* PvR012’e benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

IAA degradasyon aktivitesi gösteren suşlardan RTEU-6AR1, %99,27 oranında *Pseudomonas fluorescens* MW1; RTEU-3BTBA, %97,54 oranında *Acinetobacter* sp. UYFA39; RTEU-5AR1K, %96,60 oranında *Pseudomonas umsongensis* Kt3-26; RTEU-7AR1K, %97,86 oranında *Burkholderia cepacia* G3 ve RTEU-8T2 ise %96,03 oranında *Burkholderia* sp. LMG 32019 ile benzerlik göstermektedir.

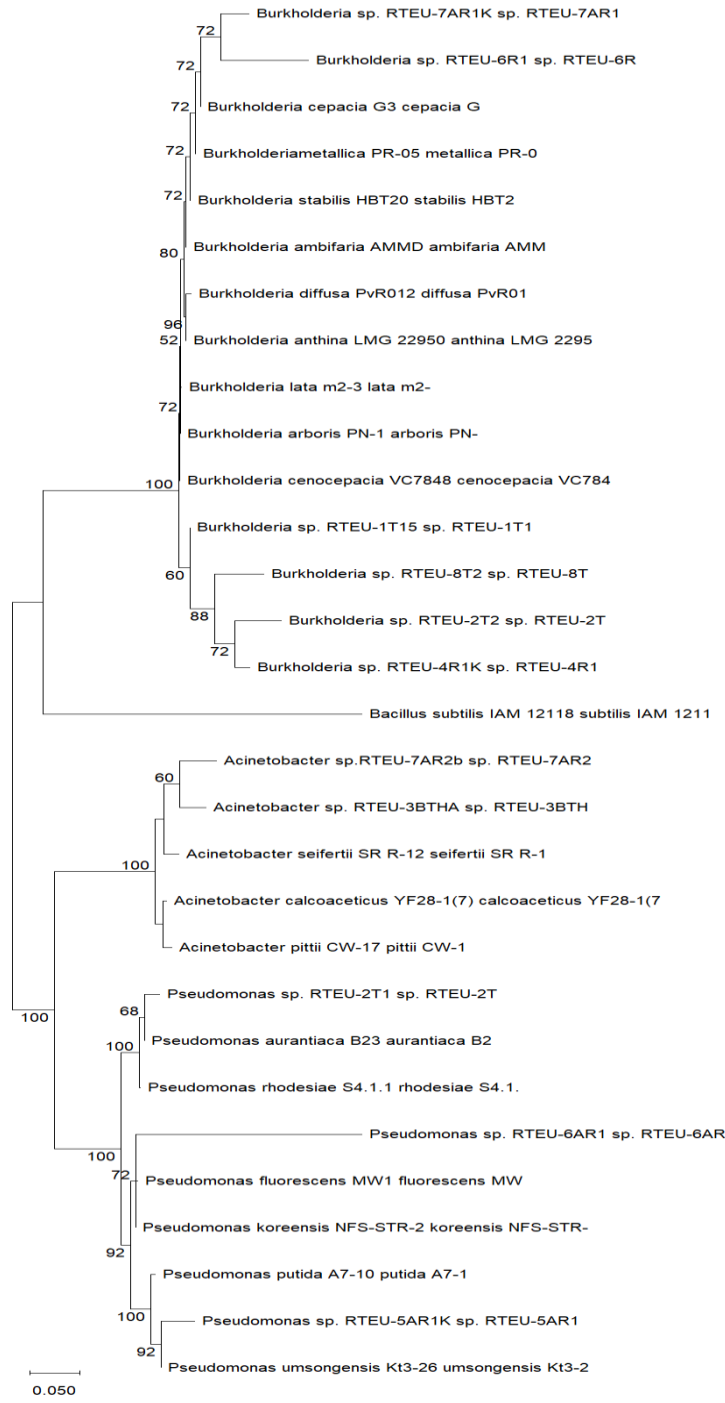
ACC deaminaz aktivitesi saptanan suşlardan RTEU-2T1, %98,24 oranında *Pseudomonas aurantiaca* B23; RTEU-1T15, %97,84 oranında *Burkholderia arboris* BSF21_1_V.trigonocarpa_HTF; RTEU-6R1, %98,48 oranında *Burkholderia stabilis* HBT20 ve RTEU-4R1K ise %96,59 oranında *Burkholderia diffusa* PvR012 ile benzerlik göstermektedir.

Filogenetik analizler sonucunda izolatların *Burkholderia*, *Acinetobacter* ve *Pseudomonas* cinsleri altında üç ana monofiletik grup oluşturduğu belirlenmiştir. *Burkholderia* grubunda yer alan izolatlar, *B. cepacia*, *B. metallica*, *B. stabilis*, *B. ambifaria*, *B. diffusa*, *B. anthina*, *B. lata*, *B. arboris* ve *B. cenocepacia* türleri ile yüksek benzerlik göstermiştir. Bu gruptaki bazı izolatlar, aynı tür içinde yüksek bootstrap destek değerleriyle kümelenmiştir (ör. RTEU-7AR1K ve RTEU-6R1; %64).

Acinetobacter grubundaki izolatlar, *A. seifertii*, *A. calcoaceticus* ve *A. pittii* türleri ile yakın filogenetik ilişki göstermiştir. Bu grupta bootstrap değerleri alt dallarda nispeten düşük olsa da (%28–64), ana grup ayrımı yüksek destek ile belirlenmiştir (%96).

Pseudomonas grubundaki izolatlar, *P. fluorescens*, *P. koreensis*, *P. putida* ve *P. umsongensis* türleri ile yüksek bootstrap destekleri (%72–100) ile kümelenmiştir. Ayrıca *P. aurantiaca* ve *P. rhodesiae* türleri, filogenetik olarak diğer *Pseudomonas* türlerinden biraz daha uzak bir dalda yer almıştır.

Tüm izolatların köken ilişkilerinin belirlenmesinde *Bacillus subtilis* IAM 12118 outgroup olarak kullanılmış ve analiz, türler arası ayrımı açık şekilde ortaya koymuştur. Elde edilen filogenetik yapı, 16S rRNA gen dizi analizleriyle tür tanımlamasını desteklemektedir (Şekil15.).



Şekil 15. Çay bitkisi ile ilişkili bakteri izolatlarının 16S rRNA gen dizilerine dayalı filogenetik ilişkilerini gösteren ağaç.

3.7. GenBank’a Sunulan Diziler ve Erişim Numaraları

16S rRNA gen bölgesine ait diziler, dizileme analizleri sonrasında NCBI GenBank veri tabanına yüklenmiş ve her birine erişim numarası atanmıştır.



4. SONUÇ

Çay bitkisi (*Camellia sinensis*), kaliteli üretim için hem çevresel stres faktörlerine hem de patojenlere karşı dirençli olmalıdır.

Fitohormon parçalayıcı bakteriler, fitohormon konsantrasyonlarını degradasyon mekanizmaları yoluyla düzenleyerek bitki gelişimini kontrol eden özel bir bitki büyümesini teşvik edici bakteri (PGPB) grubunu temsil eder (Nascimento vd., 2019). Çay tarımında fitohormon üreten bakteriler üzerine kapsamlı çalışmalar mevcut olsa da, fitohormon parçalayıcı bakterilerin *Camellia sinensis* üzerindeki özgül rolleri görece az araştırılmıştır. Bu bakteriler özellikle, hormon düzeylerini ince ayarlarla dengeleyerek, bitki sağlığı açısından zararlı olabilecek aşırı birikimleri önleyebilirler (Orozco-Mosqueda vd., 2023). Çay rhizosferinde yapılan araştırmalar, fitohormon parçalayıcı potansiyele sahip çeşitli bakteri cinslerini ortaya koymuştur. Özellikle çay rhizosferinden izole edilen *Pseudomonas* türleri, fitohormon üretimi ve düzenlenmesi dahil olmak üzere çok yönlü bitki büyümesini teşvik edici özellikler sergilemektedir (Balamurugan vd., 2015). *Bacillus* cinsi bakteriler, özellikle *B. megaterium* ve *B. pumilus* başta olmak üzere çay tarımında hem büyümeyi destekleyici etkileri hem de biyokontrol yetenekleri nedeniyle yoğun şekilde incelenmiştir (Chakraborty, vd., 2006; Chakraborty, vd., 2013). Bu bakteriler, IAA ve diğer fitohormonları sentezleme kapasitesine sahip olmanın yanı sıra, bu hormonların düzeylerinin regülasyonuna yönelik mekanizmalara da sahiptir (Chakraborty, vd., 2006).

Çay rhizosferi, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* ve *Serratia* gibi çeşitli bakteri topluluklarını barındırmakta olup, bu türler çay tarımında ürün verimliliğinin artırılması ve biyokontrol amacıyla kullanılmaktadır (Thabab ve Joshi, 2022). Çay plantasyonlarından izole edilen bitki büyümesini teşvik edici rhizobakteriler (PGPR), fosfat çözünürlüğünü artırarak ve fitohormon salınımı yoluyla bitki gelişimini desteklerken, aynı zamanda toprak kökenli fitopatojenlerin baskılanmasında da rol oynarlar (Chanda vd., 2023). Fitohormon düzenleyici yeteneklere sahip bakteri suşları, çay bitkisinin büyümesini önemli ölçüde teşvik edebilir. Çay rhizosferinden izole edilen *Bacillus megaterium*, in vivo çalışmalarda çay bitkilerinin büyümesini anlamlı şekilde artırma kapasitesi göstermiştir (Chakraborty, vd., 2006). Benzer şekilde, *Bacillus pumilus* uygulaması, çay çeşitlerinde bitki boyu,

dal sayısı ve yaprak sayısındaki artışlar ile belirlenen büyüme teşvik edici etkiler ortaya koymuştur (Chakraborty, vd., 2013).

Fitohormon parçalayıcı bakteriler, hormon homeostazını düzenleyerek çay bitkisinin metabolizmasını etkileyebilir. Bitkiyle ilişkili mikrobiyota, özellikle IAA gibi hormonların dengesini kontrol ederek, bitki gelişimi ve büyümesi üzerinde doğrudan etkili olabilir. Bu bakteriler, hormonların aşırı birikiminin yol açabileceği büyüme baskılanmasını engelleyerek optimum gelişme koşullarını destekler.

Ayrıca, fitohormon parçalayıcı bakteriler, çay bitkilerinde hastalık direncini çeşitli mekanizmalarla artırır. *B. megaterium* uygulaması, polifenol düzeylerini ve peroksidaz, kitinaz, β -1,3-glukanaz ve fenilalanin amonyak liyaz gibi savunma ile ilişkili enzimlerin aktivitesini artırmıştır (Chakraborty, vd., 2006). Bu biyokimyasal değişiklikler, çay bitkilerinde sistemik kazanılmış direnç (SAR) mekanizmasının aktive edildiğine işaret etmektedir. Bu bakteriler, çay bitkilerinde hastalıklara neden olan patojenlere karşı önemli biyokontrol potansiyeli göstermektedir. *Bacillus pumilus*, çay köklerinde hastalığa yol açan çeşitli fungal patojenlerin, ör: *Poria hypobrunnea*, *Fomes lamaoensis* ve *Sclerotium rolfsii*, büyümesini baskılamıştır (Chakraborty, vd., 2013). Özellikle, *Fomes lamaoensis* kaynaklı kahverengi kök çürüklüğü hastalığı, *B. megaterium* uygulaması ile belirgin şekilde azaltılmış; bu patojenin popülasyonları, bakterinin varlığında önemli ölçüde düşmüştür (Chakraborty, vd., 2006). Çay bitkisinin patojen enfeksiyonlarına karşı verdiği yanıt, karmaşık fitohormon sinyal ağlarını içerir. SA, savunma mekanizmalarının aktive edilmesinde temel bir bileşen olup, SA ve türevleri ile hastalıklara dirençli gen ifadeleri arasında pozitif bir korelasyon bildirilmiştir. Bu yanıtta, jasmonik asit (JA), etilen (ETH) ve brassinosteroidler gibi savunma ile ilişkili hormon metabolitlerinin biyosentezi de rol oynayabilir (Zhou vd., 2024).

Fitohormon parçalayıcı bakteriler de dahil olmak üzere PGPR'ler, sürdürülebilir tarım uygulamalarında kimyasal gübre ve pestisitlerin yerini alabilecek çevre dostu alternatifler sunmaktadır (Thabab ve Joshi, 2022). PGPR kullanımı, organik çay üretiminde kimyasal gübre kullanımını en aza indirmeye potansiyeline sahiptir (Chanda vd., 2023). Örneğin, *Pseudomonas* türleri kaya fosfatının %50 azaltılarak uygulanmasıyla birlikte kullanıldığında toprak besin maddesi dengesini iyileştirmiş ve çay veriminde artış sağlamıştır (Balamurugan vd., 2015).

Bakteriyel konsorsiyumlar, bireysel suşlara kıyasla daha yüksek etkililik göstermektedir. *Pseudomonas* türleri, diğer faydalı biyoinokulantlarla sinerjistik etkileşim sergileyerek konsorsiyum geliştirme potansiyelini ortaya koymuştur (Balamurugan vd., 2015). Rhizobakteriyel konsorsiyumlar, pirinç bitkilerinde yaygın yaprak patojenlerine karşı direnci artırmış olup, benzer bir potansiyelin çay tarımı için de geçerli olabileceği öne sürülmektedir (Banerjee ve Acharya, 2020).

Fitohormon düzenleyici bakterilerin saha uygulamaları da umut verici sonuçlar göstermiştir. Bu bakteriler, immünoassay teknikleriyle tespit edildiği üzere, rhizosferde sürdürülebilir kolonizasyon sağlayabilmektedir (Chakraborty, vd., 2013). Kimyasal girdilerin azaltıldığı sistemlerle birlikte bu bakterilerin entegre edilmesi, üretkenliği korurken veya artırırken çevresel etkileri azaltmaya da katkı sağlamaktadır (Balamurugan vd., 2015).

Son dönemdeki gelişmeler arasında, çeşitli bitki dokularından ve çevresel kaynaklardan fitohormon parçalayıcı bakterilerin izole edilmesine yönelik optimize edilmiş hedefe yönelik metodolojiler yer almaktadır. Bu yöntemler, geniş bakteri koleksiyonlarının uzun süreli izolasyonu ve korunmasına duyulan ihtiyacı ortadan kaldırarak, özellikle gelişmekte olan ülkelerde bitki büyümesini teşvik edici bakteriler (PGPB) üzerine yapılan araştırmaları büyük ölçüde kolaylaştırmaktadır (Nascimento vd., 2019).

Tarım ve biyoteknoloji alanlarında yeni biyoinokulant formülasyonlarının geliştirilmesi, önemli bir ilerlemeyi temsil etmektedir (Nascimento vd., 2019). Bakteriyel fitohormon modülasyonunun altında yatan moleküler mekanizmaların anlaşılması, bitki büyümesini daha etkin şekilde teşvik eden geliştirilmiş bakteri suşlarının genetik mühendislik yoluyla oluşturulması için yeni olanaklar sunmaktadır (Orozco-Mosqueda vd., 2023). Nascimento vd., (2019), birden fazla fitohormon parçalayıcı aktiviteye sahip bakterilerin izolasyonuna yönelik hedefe yönelik metodolojiler geliştirerek, yeni inokulant formülasyonlarının oluşturulmasını kolaylaştırmıştır.

Çay tarımında, SA aracılı bitki bağışıklığı ile toprak mikrobiyal toplulukları arasındaki etkileşim özellikle önemli hale gelmektedir. Fitohormon parçalayan bakteriler, rhizosferdeki SA düzeylerini değiştirerek çay bitkisinin savunma yanıtlarını modüle edebilir. Bu mikrobiyal aktivite, bitkinin yaygın çay patojenlerine karşı

sistemik kazanılmış direnç (SAR) yanıtını etkin bir şekilde oluşturma yeteneğini etkileyebilir ve bu da ürün verimi ile kalite üzerinde potansiyel olarak olumsuz sonuçlar doğurabilir. SA aracılı sistemik kazanılmış direnç (SAR) mekanizmasının anlaşılması, sürdürülebilir tarım ve bitki koruma stratejileri açısından önemli uygulamalara sahiptir. Toprak bakterilerinin temel fitohormonları parçalayabildiğinin ortaya konması, bitki bağışıklık yanıtlarını optimize etmek amacıyla toprak mikrobiyal topluluklarının yönetilmesi için yeni fırsatlar sunmaktadır. Çay tarımı özelinde, bu durum bitki savunma sistemlerini zayıflatmak yerine destekleyen faydalı mikroorganizmaların seçilmesini içerebilir. Genomik analizler, fitohormon degradasyonundan sorumlu özel gen kümelerinin varlığını ortaya koymuştur. Karşılaştırmalı genomik ve transkriptomik analizler ise, fitohormon parçalayıcı suşlar arasında korunan düzenleyici mekanizmaları tanımlamıştır. Bu bulgular, hem bakteriyel-bitki etkileşimlerini daha iyi anlamak hem de hedefe yönelik uygulamalar geliştirmek için güçlü bir temel oluşturmaktadır Birden fazla çalışma, bu bakterilerin büyümeyi teşvik edici ve patojenleri baskılayıcı etkilerini tutarlı şekilde ortaya koymuştur (Chakraborty, vd., 2006; Chakraborty, vd., 2013). Belirli bakteri cinslerinin ve bunların mekanizmalarının tanımlanması, bu mikroorganizmaların pratik uygulamalarda değerlendirilmesi için sağlam bir temel oluşturmaktadır.

Bitki büyümesi ve bağışıklık sistemi, fitohormonlar (özellikle IAA, SA ve etilen öncülü ACC) tarafından düzenlenir. Bu hormonların rhizosfer ortamında parçalanması, çay bitkisinin gelişimini ve patojenlere karşı savunma kapasitesini önemli ölçüde etkileyebilir. Son yıllarda, bu hormonları parçalayabilen mikroorganizmaların tarımsal biyoteknoloji ve sürdürülebilir çay tarımı açısından potansiyeli dikkat çekmektedir.

Çay yetiştiriciliğinde fitohormon parçalayıcı bakteriler, hormon düzeylerini degradasyon mekanizmaları yoluyla düzenleyerek bitki büyümesi, hastalıklara direnç ve tarımsal verimlilik üzerinde kritik roller oynayabilirler. Ancak bu bakterilerin çay bitkisiyle olan etkileşimlerine yönelik araştırmalar, genel bitki-mikroorganizma ilişkilerine kıyasla hâlâ sınırlı düzeydedir. Mevcut literatürün büyük kısmı, hormon üreten bakterilere odaklanırken, hormon parçalayıcı bakterilere dair tamamlanmış çalışma azdır. Özellikle çay bitkisiyle ilişkili bakterilerde fitohormon degradasyonunun moleküler mekanizmaları henüz ayrıntılı biçimde açıklığa

kavuşmamıştır. Ayrıca, bu bakterilerin çay tarlalarında uzun vadeli kalıcılığı ve etkinliğini değerlendiren kapsamlı saha çalışmaları da eksiktir.

Mevcut bulgular çoğunlukla laboratuvar ve sera koşullarında elde edilmiş olup, bazı saha uygulamaları raporlanmıştır. Ancak, fitohormon parçalayıcı bakterilerin çay tarımındaki etkilerini ticari üretim koşullarında doğrulamak için özel olarak tasarlanmış, uzun dönemli ve çok yönlü saha denemelerine acil ihtiyaç vardır. Fitohormon parçalayıcı bakterilerin çay tarımı uygulamalarına entegrasyonu, çeşitli pratik avantajlar sunmaktadır. Bu bakteriler, sentetik büyüme düzenleyiciler ve pestisitlere biyolojik alternatifler olarak işlev görebilir, böylece sürdürülebilir çay üretimini destekler. Hormon düzeylerini hassas bir şekilde modüle etme yetenekleri sayesinde, çay bitkisinin gelişimi ve stres yanıtları optimize edilebilir.

Bu bakterilere dayalı biyoinokulantların geliştirilmesi, çay üreticileri için girdi maliyetlerini azaltabilirken, verimliliği koruyabilir veya artırabilir. Aynı zamanda, bu mikroorganizmaların biyokontrol özellikleri sayesinde fungal hastalıklara karşı mücadelede fungisit kullanımına olan bağımlılık azalabilir; bu da hem üretim maliyetlerini hem de çevresel etkileri düşürebilir.

Gelecekteki araştırmalar, özellikle çay ekosistemlerinden izole edilmiş fitohormon parçalayıcı bakterilerin tanımlanması ve karakterizasyonuna odaklanmalıdır. Bu bakterilerin çeşitli çevresel koşullarda etkinliğini ve kalıcılığını değerlendirmek için uzun vadeli saha denemelerine ihtiyaç vardır. Ayrıca, standart biyoinokulant formülasyonları ve uygulama protokollerinin geliştirilmesi, bu biyolojik çözümlerin ticari olarak benimsenmesini kolaylaştıracaktır.

Gerçekleştirilen bu çalışmada, izole edilen ACC deaminaz-pozitif bakteri suşları, literatürde benzeri görülen çay rhizosfer kökenli PGPR suşlarıyla benzer özellikler göstermektedir. Örneğin, Çin’de yerel tea rhizosferinden izole edilen *Serratia marcescens* JW-CZ2 suşu, yaklaşık $1.077 \mu\text{mol } \alpha\text{-KB} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{sa}^{-1}$ ile en yüksek aktiviteyi göstererek çay bitkisinin sürgün boyu, gövde kalınlığı ve kuru ağırlığını anlamlı şekilde artırmıştır (Liu vd., 2022). 36 suştan rastgele seçilen altı suşta ACC deaminaz (ACCD) aktivitesi belirlenmiş ve değerler $0\text{--}2,58 \mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutirat } \text{mg}^{-1} \text{ protein h}^{-1}$ aralığında bulunmuştur. Ölçülen aktiviteler, literatürde farklı bakteri türleri için bildirilen değerlerle kıyaslandığında, çoğu izolatin düşük–orta aktivite kategorisinde yer aldığı görülmektedir.

Onofre-Lemus vd. (2009), 18 farklı *Burkholderia* türünde ACCD aktivitesini 2–15 $\mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ aralığında bildirmiş ve bu özelliğin bitki büyümesini teşvik etmede önemli olduğunu vurgulamıştır (Onofre-Lemus vd., 2009). Benzer şekilde, *Pseudomonas fluorescens* 3-1 izolatı $2,63 \pm 0,12 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ aktivite ile rapor edilmiştir (Guo vd., 2011). Bizim çalışmamızda en yüksek aktiviteye sahip 6RACC-2 izolatının ($2,555 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) bu değerlere oldukça yakın olduğu görülmektedir.

Daha düşük seviyelerdeki örnekler ($0,981\text{--}1,939 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$) ise, özellikle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus subtilis* izolatlarında bildirilen $0,257 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ gibi düşük değerlerden (Gupta vd, 2022) daha yüksek olmakla birlikte, maksimum seviyelerin altında kalmaktadır. Bu durum, test edilen suşların genetik potansiyeli, kültür koşulları, kullanılan ortam bileşimi ve ölçüm yönteminden kaynaklanabilir.

İlginç olarak, *Arthrobacter* sp. 7037 izolatı için $2,530 \mu\text{mol mg}^{-1} \text{h}^{-1}$ aktivite bildiren Sun, (2011) ile çalışmamızdaki en yüksek değer neredeyse aynıdır. Bu da 6RACC-2 izolatının potansiyel olarak yüksek ACCD üreticisi olabileceğini göstermektedir. ACC deaminaz aktivitesinin çay rhizosfer PGPR'ları için kritik bir fayda sağladığını gösteren başka çalışmalar da vardır. Örneğin *Burkholderia pyrrocinia* P10 suşu, tea rhizosferinden izole edilmiş ve $33,01 \mu\text{mol} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ protein ile yüksek aktivite göstermiştir (Han vd., 2021).

Sonuç olarak, ön tarama kapsamında test edilen altı suştan en az ikisi (4RACC1-K ve 6RACC-2) literatürdeki yüksek aktivite sınırına yakın veya bu sınırdaki değerler göstermiştir. Bu bulgular, kalan 30 suş arasında daha yüksek aktiviteye sahip adayların bulunabileceğine işaret etmektedir. Daha geniş ölçekli taramalar ve optimum koşullarda yapılacak doğrulama testleri, özellikle yüksek ACCD aktivitesine sahip PGPR suşlarının tarımsal biyoteknolojide kullanım potansiyelini ortaya çıkaracaktır.

Yaprak örneklerinden yalnızca 1 izolat elde edilmesi, bu dokuda mikrobiyal yoğunluğun düşük olduğunu; meyveden elde edilen 5 izolat ise meyve yüzey ve iç dokularının bazı mikroorganizmalar için uygun bir yaşam alanı sunduğunu düşündürmektedir.

İzolatların lokasyon bazında dağılımı incelendiğinde, SA parçalama aktivitesi gösteren nadir suşların yalnızca Veliköy ve Özgür Çay lokasyonlarından elde edildiği belirlenmiştir. Bu bulgu, belirli ekolojik veya tarımsal koşulların SA-parçalayıcı mikroorganizmaların varlığını destekleyebileceğini düşündürmektedir.

belirlenmiştir. Bu bulgu, belirli ekolojik veya tarımsal koşulların SA-parçalayıcı mikroorganizmaların varlığını destekleyebileceğini düşündürmektedir.

İzole edilen bakteri sayıları, hem örnek tipine hem de örnekleme alanına göre farklılık göstermiştir. Bu durum, farklı mikrohabitatların ve çevresel koşulların bakteri topluluklarının çeşitliliği ve yoğunluğu üzerindeki etkisini göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, IAA parçalama aktivitesi gösteren izolatların bir kısmının diğer fitohormonlarda (ACC veya SA) da aktivite gösterebildiğini, ancak SA parçalama yeteneğinin yalnızca SA-pozitif grupta sınırlı kaldığını ortaya koymuştur. Bu durum, IAA degradasyon kapasitesinin bazı izolatlarda çoklu hormon parçalama yeteneği ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Buna ek olarak, *Pseudomonas fluorescens* ve diğer PGPR suşlarının hem ACC deaminaz hem de IAA üretimi gibi çoklu faydalı mekanizmalar gösterdiği bilinmektedir; bunlar bitki büyümesi ve stres toleransını eş zamanlı olarak destekler (Timofeeva, vd., 2024). Çalışmadan elde edilen izolatlarının hem IAA degradasyonu hem ACC deaminaz aktivitesi göstermesi, bu tür çok mekanizmalı etkileşim potansiyelini destekler niteliktedir.

KAYNAKÇA

- Abbas, M. M., Ismael, W. H., Mahfouz, A. Y., Daigham, G. E., & Attia, M. S. (2024). Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing *Rhizoctonia* root-rot disease. *Scientific Reports*, 14, 1000.
- Abeles, F. B., Morgan, P. W., & Saltveit Jr, M. E. (2012). *Ethylene in plant biology*. Academic press.
- Achard, P., Cheng, H., De Grauwe, L., Decat, J., Schoutteten, H., Moritz, T., Van Der Straeten, D., Peng, J. R., & Harberd, N. P. (2006). Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science*, 311(5757), 91–94.
- Acharya, B. R., & Assmann, S. M. (2009). Hormone interactions in stomatal function. *Plant molecular biology*, 69(4), 451-462.
- Adams, D. O., & Yang, S. (1979). Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 76(1), 170-174.
- Adams, D. O., & Yang, S. F. (1977). Methionine metabolism in apple tissue: implication of S-adenosylmethionine as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene. *Plant Physiology*, 60(6), 892-896.
- Afridi, M. S., Kumar, A., Javed, M. A., Dubey, A., de Medeiros, F. H. V., & Santoyo, G. (2023). Harnessing Root Exudates for Plant Microbiome Engineering and stress resistance in plants. *Microbiology Research*, 14(4), 1823-1843
- Ahmad, F.; Ahmad, I.; Khan, M. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol. Res.* 2008, 163, 173–181.
- Ahmad, I., Akhtar, M. J., Asghar, H. N., Ghafoor, U., & Shahid, M. (2016). Differential effects of plant growth-promoting rhizobacteria on maize growth and cadmium uptake. *Journal of plant growth regulation*, 35(2), 303-315.
- Ajinde, A. O., Dayo-Olagbende, O. G., & Akpor, O. B. (2024). Direct and Indirect Mechanisms of Growth Promotion by Plant Growth Promoting Rhizobacteria. In *2024 International Conference on Science, Engineering and Business for Sustainable Development Goals* (pp. 1-6). IEEE.
- Aklujkar M, Risso C, Smith J, Beaulieu D, Dubay R, Giloteaux L, DiBurro K, Holmes D (2014) Anaerobic degradation of aromatic amino acids by the hyperthermophilic archaeon *Ferroplasma acidiphilum*. *Microbiology* 160:2694–2709

- Alghofaili, F. (2025). Diversity in Soil Microbes: An Essential Factor in Food Security and Human Health-A Review. *Majmaah Journal of Health Sciences*, 13(1), 134-134.
- Al-Hawamdeh, F., Ayad, J. Y., Alananbeh, K. M., & Akash, M. W. (2024). Bacterial endophytes and their contributions to alleviating drought and salinity stresses in wheat: a systematic review of physiological mechanisms. *Agriculture*, 14(5), 769.
- Ali, M. A., Ahmed, T., Ibrahim, E., Rizwan, M., Chong, K. P., & Yong, J. W. H. (2024). A review on mechanisms and prospects of endophytic bacteria in biocontrol of plant pathogenic fungi and their plant growth-promoting activities. *Heliyon*, 10(11), e31573.
- Antithrombotic Trialists' (ATT) Collaboration. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*. 2009;373:1849–60.
- Antoun, H.; Kloepper, J.W. Plant growth promoting rhizobacteria. In *Encyclopedia of Genetics*; Brenner, S., Miller, J.H., Eds.; Academic: New York, NY, USA, 2001; pp. 1477–1480
- Arafat, Y., Ud Din, I., Tayyab, M., Jiang, Y., Chen, T., Cai, Z., Zhao, H., Lin, X., Lin, W., & Lin, S. (2020). Soil sickness in aged tea plantation is associated with a shift in microbial communities as a result of plant polyphenol accumulation in the tea gardens. *Frontiers in Plant Science*, 11, 601.
- Azam, H. M. H., Hussain, N., Mumtaz, M., Jabeen, B., Shahbaz, A., El-Sappah, A. H., & Kuddus, M. (2023). Applications of microbial biomolecules in sustainable agriculture. In *Microbial Biomolecules* (pp. 429-450). Academic Press.
- Bai, Y., Müller, D. B., Srinivas, G., Garrido-Oter, R., Potthoff, E., Rott, M., Dombrowski, N., Münch, P. C., Spaepen, S., Remus-Emsermann, M., Hüttel, B., McHardy, A. C., Vorholt, J. A., & Schulze-Lefert, P. (2015). Functional overlap of the *Arabidopsis* leaf and root microbiota. *Nature*, 528(7582), 364–369.
- Bakker PAHMHM, Doornbos RF, Zamioudis C, Berendsen RL, Pieterse CMJCMJ (2013) Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome. *Plant Pathol J* 29: 136–143
- Bakker, P. A., Pieterse, C. M., de Jonge, R., & Berendsen, R. L. (2018). The soil-borne legacy. *Cell*, 172(6), 1178-1180.
- Bakshi, A., Shemansky, J. M., Chang, C., & Binder, B. M. (2015). History of research on the plant hormone ethylene. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(4), 809-827.
- Balamurugan, A., Bagyalakshmi, B., Nepolean, P., Kuberan, T., Mareeswaran, J., Jayanthi, R., & Princy, T. (2015). Exploitation of *Pseudomonas* sp. for disease

- control and productivity in tea. *International Journal of Multidisciplinary Research and Development*, 2(2), 125-130.
- Bartsch, M., Bednarek, P., Vivancos, P. D., Schneider, B., von Roepenack-Lahaye, E., Foyer, C. H., ... & Parker, J. E. (2010). Accumulation of isochlorogenic acid-derived 2, 3-dihydroxybenzoic 3-O- β -D-xyloside in *Arabidopsis* resistance to pathogens and ageing of leaves. *Journal of Biological Chemistry*, 285(33), 25654-25665.
- Bechtold, U., Field, B. (2018). Molecular mechanisms controlling plant growth during abiotic stress. *J. Exp. Bot.* 69, 2753–2758. doi: 10.1093/jxb/ery157
- Belimov Madhaiyan M, Poonguzhali S. Ryu J and Sa T (2006) Regulation of ethylene levels in canola (*Brassica campestris*) by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-containing *Methylobacterium fujisawaense*. *Planta* 224:268-278.
- Belimov, A. A., Dodd, I. C., Safronova, V. I., Hontzeas, N., & Davies, W. J. (2007). *Pseudomonas brassicacearum* strain Am3 containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase can show both pathogenic and growth-promoting properties in its interaction with tomato. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1485-1495.
- Banerjee, S., & Acharya, U. (2020). Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India. *Scientific Reports*, 10(1), 15536
- Berlanas C, Berbegal M, Elena G, Laidani M, Cibrián JF, Sagués A, Gramaje D (2019) The fungal and bacterial rhizosphere microbiome associated with grapevine rootstock genotypes in mature and young vineyards. *Front Microbiol* 10: 1–16
- Bertola, M., Ferrarini, A., & Visioli, G. (2021). Improvement of soil microbial diversity through sustainable agricultural practices and its evaluation by-omics approaches: A perspective for the environment, food quality and human safety. *Microorganisms*, 9(7), 1400.
- Bigott, A. F., Hutton, S. F., Vallad, G., Lankau, R., & Barak, J. (2023). Narrow, but not broad, spectrum resistance and disease reshape phyllosphere bacterial communities. *bioRxiv*, 2023-08.
- Blaha D. Prigent-Combaret C, Mirza MS and Moenne-Loccoz Y (2006) Phylogeny of the 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase encoding gene *acdS* in phytobeneficial and pathogenic proteobacteria and relation with strain biogeography. *FEMS Microbiol. Ecol.* 56:455-470.
- Bloudoff, K., & Schmeing, T. M. (2017). Structural and functional aspects of the nonribosomal
- Bogas, A. C., Ferreira, A. J., Araújo, W. L., Astolfi-Filho, S., Kitajima, E. W., Lacava, P. T., & Azevedo, J. L. (2015). Endophytic bacterial diversity in the

- phyllosphere of Amazon *Paullinia cupana* associated with asymptomatic and symptomatic anthracnose. *SpringerPlus*, 4, 258.
- Boller, T., & Felix, G. (2009). A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual review of plant biology*, 60, 379-406.
- Boller, T., Hener, R. C., & Kende, H. (1979). Assay for and enzymatic formation of an ethylene precursor, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Planta*, 145(3), 293-303.
- Bora, P., & Bora, L. C. (2021). Microbial antagonists and botanicals mediated disease management in tea, *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze: an overview. *Crop Protection*, 148, 105711.
- Bosch R, Moore ER, García-Valdés E, Pieper DH, NahW PDH. NahW, a novel, inducible salicylate hydroxylase involved in mineralization of naphthalene by *Pseudomonas stutzeri* AN10. *J Bacteriol.* 1999;181:2315–2322.
- Bosch, R., Moore, E. R., García-Valdés, E., & Pieper, D. H. (1999). NahW, a novel, inducible salicylate hydroxylase involved in mineralization of naphthalene by *Pseudomonas stutzeri* AN10. *Journal of bacteriology*, 181(8), 2315-2322.
- Boyer, J. S. (1982). Plant productivity and environment. *Science*, 218(4571), 443-448.
- Bozsoki, Z., Gysel, K., Hansen, S. B., Lironi, D., Krönauer, C., Feng, F., de Jong, N., Vinther, M., Kamble, M., Thygesen, M. B., Engholm, E., Kofoed, C., Fort, S., Sullivan, J. T., Ronson, C. W., Jensen, K. J., Blaise, M., Oldroyd, G., Stougaard, J., Andersen, K. R., & Radutoiu, S. (2020). Ligand-recognizing motifs in plant LysM receptors are major determinants of specificity. *Science*, 369(6504), 663–670.
- Brandl, M. T., & Lindow, S. E. (1997). Environmental signals modulate the expression of an indole-3-acetic acid biosynthetic gene in *Erwinia herbicola*. *Molecular plant-microbe interactions*, 10(4), 499-505.
- Bray, E. A., Bailey-Serres, J., and Weretilnyk, E. (2000). “Responses to abiotic stresses,” in *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, eds W. Gruissem, B. Buchanan, and R. Jones (Rockville, MD: American Society of Plant Physiologists), 1158–1249.
- Burrill, H. M., Wang, G., & Bever, J. D. (2023). Rapid differentiation of soil and root microbiomes in response to plant composition and biodiversity in the field. *ISME Communications*, 3(1), 237.
- Bürstenbinder, K., Waduware, I., Schoor, S., Moffatt, B. A., Wirtz, M., Minocha, S. C., Oppermann, Y., Bouchereau, A., Hell, R., & Sauter, M. (2010). Inhibition of 5'-methylthioadenosine metabolism in the Yang cycle alters polyamine levels, and impairs seedling growth and reproduction in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 62(6), 977–988.

- Büyükcam, A., Tuncer, Ö., Gür, D., Sancak, B., Ceyhan, M., Cengiz, A. B., & Kara, A. (2018). Clinical and microbiological characteristics of *Pantoea agglomerans* infection in children. *Journal of infection and public health*, 11(3), 304-309.
- Camara, B., Bielecki, P., Kaminski, F., Dos Santos, V.M., Plumeier, I., Nikodem, P., and Pieper, D.H. (2007) A gene cluster involved in degradation of substituted salicylates via ortho cleavage in *Pseudomonas* sp. strain MT1 encodes enzymes specifically adapted for transformation of 4-methylcatechol and 3-methylmuconate. *J Bacteriol* 189: 1664–1674
- Carmona M, Zamarro MT, Blázquez B, Durante-Rodríguez G, Juárez JF, Valderrama JA, Barragán MJL, García JL, Díaz E (2009) Anaerobic catabolism of aromatic compounds: a genetic and genomic view. *Microbiol Mol Biol Rev* 73:71–133
- Catinot J, Buchala A, Abou-Mansour E, Métraux JP. Salicylic acid production in response to biotic and abiotic stress depends on isochorismate in *Nicotiana benthamiana*. *FEBS Lett.* 2008;582:473–8.
- Cerboneschi, M., Decorosi, F., Biancalani, C., Ortenzi, M. V., Macconi, S., Giovannetti, L., Viti, C., Campanella, B., Onor, M., Bramanti, E., & Tegli, S. (2016). Indole-3-acetic acid in plant–pathogen interactions: a key molecule for in planta bacterial virulence and fitness. *Research in Microbiology*, 167(9–10), 774–787.
- Chakrabarty, A. M. (1972). Genetic Basis of the Biodegradation of Salicylate in *Pseudomonas*. *Journal of Bacteriology*, 112(2), 815-823.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B., & Basnet, M. (2006). Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. *Journal of Basic Microbiology*, 46(3), 186-195.
- Chakraborty, U., Chakraborty, B. N., & Roychowdhury, P. (2013). Plant growth promoting activity of *Bacillus pumilus* in tea (*Camellia sinensis*) and its biocontrol potential against *Poria hypobrunnea*. *Indian Phytopathology*, 66(2), 154-163.
- Chanda, D., Sharma, G. D., & Dey, M. (2023). The potential use of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) for Tea Plant Cultivation in Assam: A Review. *Ecology, Environment and Conservation*, 29(2), 073
- Chapin, F. S. (1991). Integrated responses of plants to stress. *BioScience*, 41(1), 29-36.
- Chauhan, P., Sharma, N., Tapwal, A., Kumar, A., Verma, G. S., Meena, M. S., Seth, C. S., & Swapnil, P. (2023). Soil Microbiome: Diversity, Benefits and Interactions with Plants. *Sustainability*, 15(19), 14643.
- Chauhan, P., Sharma, N., Tapwal, A., Kumar, A., Verma, G. S., Meena, M. S., Seth, C. S., & Swapnil, P. (2023). Soil Microbiome: Diversity, Benefits and Interactions with Plants. *Sustainability*, 15(19), 14643.

- Chaves, M. M., Maroco, J. P., Pereira, J. S. (2003). Understanding plant responses to drought – from genes to the whole plant. *Funct. Plant Biol.* 30, 239–264. doi: 10.1071/FP02076
- Che, J., Wu, Y., Yang, H. W., Wang, S., Wu, W. L., Lyu, L. F., & Li, W. (2023). Root Niches of Blueberry Imprint Increasing Bacterial-Fungal Interkingdom Interactions along the Soil-Rhizosphere-Root Continuum. *Microbiology Spectrum*, 11(3), e05333-22.
- Cheng, Y. T., Zhang, L., & He, S. Y. (2019). Plant-microbe interactions facing environmental challenge. *Cell host & microbe*, 26(2), 183-192.
- Chernin, L., & Glick, B. R. (2012). The Use of ACC Deaminase to Increase the Tolerance of Plants to Various Phytopathogens (pp. 279–299). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Cho, S. T., Chang, H. H., Egamberdieva, D., Kamilova, F., Lugtenberg, B., & Kuo, C. H. (2015). Genome analysis of *Pseudomonas fluorescens* PCL1751: a rhizobacterium that controls root diseases and alleviates salt stress for its plant host. *PLoS One*, 10(10), e0140231.
- Choudhary, D. K., Sharma, K. P., & Gaur, R. K. (2011). Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnology letters*, 33(10), 1905-1910.
- Choudhary, M., & Kumari, A. (2021). Understanding Plant Hormones: Mechanisms and Functions in Growth and Development. *Plant Science Archives*, 6(1), 14.
- Yamaguchi, I. (2010). 4.02 – Plant Hormones. In Book Chapter (pp. 1-25).
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Cortés-Penagos, C., & López-Bucio, J. (2009). *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 149(3), 1579-1592.]
- Conway, J. M., Walton, W. G., Salas-González, I., Law, T. F., Lindberg, C. A., Crook, L. E., Kosina, S. M., Fitzpatrick, C. R., Lietzan, A. D., Northen, T. R., Jones, C. D., Finkel, O. M., Redinbo, M. R., & Dangl, J. L. (2022). Diverse MarR bacterial regulators of auxin catabolism in the plant microbiome. *Nature Microbiology*, 7(11), 1817–1833.
- Coulson, T. J., & Patten, C. L. (2015). Complete genome sequence of *Enterobacter cloacae* UW5, a rhizobacterium capable of high levels of indole-3-acetic acid production. *Genome announcements*, 3(4), 10-1128.
- Çakmakçı, R. (2009). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing plant growth promoting bacteria under stress conditions. 40(1), 109–125.
- Davies, P. J. (1995). The Plant Hormones: Their Nature, Occurrence, and Function. *Plant Hormones*.

- Dempsey, D. M. A., & Klessig, D. F. (2017). How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans?. *BMC biology*, 15(1), 23.
- Dempsey, D. M. A., Vlot, A. C., Wildermuth, M. C., & Klessig, D. F. (2011). Salicylic acid biosynthesis and metabolism. *The Arabidopsis book*/American Society of Plant Biologists, 9, e0156.
- Dewdney J, Reuber TL, Wildermuth MC, Devoto A, Cui J, Stutius LM, Drummond EP, Ausubel FM. Three unique mutants of *Arabidopsis* identify eds loci required for limiting growth of a biotrophic fungal pathogen. *Plant J*. 2000;24:205–18.
- Dhungana, S. A., & Itoh, K. (2019). Effects of co-inoculation of indole-3-acetic acid-producing and -degrading bacterial endophytes on plant growth. *Horticulturae*, 5(1), 17.
- Djamei A, Schipper K, Rabe F, Ghosh A, Vincon V, Kahnt J, Osorio S, Tohge T, Fernie AR, Feussner I, Feussner K, Meinicke P, Stierhof YD, Schwarz H, Macek B, Mann M, Kahmann R. Metabolic priming by a secreted fungal effector. *Nature*. 2011;478:395–8.
- Dolatabadian, A. (2020). Plant–microbe interaction. *Biology*, 10(1), 15.
- Donati, A.J., Lee, H.I., Loveau, J.H.J., and Chang, W.S. (2013) Effects of Indole-3-acetic acid on the transcriptional activities and stress tolerance of *Bradyrhizobium japonicum*. *PLoS One* 8: 1-11.
- Donoso, R., Leiva-Novoa, P., Zúñiga, A., Timmermann, T., Recabarren-Gajardo, G., & González, B. (2016). Biochemical and genetic bases of indole-3-acetic acid (oksin phytohormone) degradation by the plant-growth-promoting rhizobacterium *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(1), e01991-16
- Duca D, Lorv J, Patten CL, Rose D, Glick BR (2014) Indole-3-acetic acid in plant-microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek* 106:85– 125
- Duca, D., Lorv, J., Patten, C. L., Rose, D., & Glick, B. R. (2014). Indole-3-acetic acid in plant–microbe interactions. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(1), 85-125.
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., & Milanowski, J. (2016). *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(2).
- Dutkiewicz, J., Mackiewicz, B., Lemieszek, M. K., Golec, M., & Milanowski, J. (2016). *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part IV. Beneficial effects. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 23(2).

- Ebenau-Jehle C, Thomas M, Scharf G, Kockelkorn D, Knapp B, Schühle K, Heider J, Fuchs G (2012) Anaerobic metabolism of indoleacetate. *J Bacteriol* 194:2894–2903
- Ebenau-Jehle, C., Thomas, M., Scharf, G., Kockelkorn, D., Knapp, B., Schühle, K., Heider, J., & Fuchs, G. (2012). Anaerobic metabolism of indoleacetate. *Journal of Bacteriology*, 194(11), 2894–2903.
- Eckardt, N. A. (2001). New insights into oksin biosynthesis.
- Egamberdieva, D., & Kucharova, Z. (2009). Selection for root colonising bacteria stimulating wheat growth in saline soils. *Biology and fertility of soils*, 45(6), 563-571.
- Egamberdieva, D., Kamilova, F., Validov, S., Gafurova, L., Kucharova, Z., & Lugtenberg, B. (2008). High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. *Environmental microbiology*, 10(1), 1-9.
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Alqarawi, A. A., Abd_Allah, E. F., & Hashem, A. (2017). Phytohormones and beneficial microbes: essential components for plants to balance stress and fitness. *Frontiers in microbiology*, 8, 2104.
- Egamberdieva, D., Wirth, S., Behrendt, U., Ahmad, P., & Berg, G. (2017). Antimicrobial activity of medicinal plants correlates with the proportion of antagonistic endophytes. *Frontiers in microbiology*, 8, 199.
- Egamberdiyeva, D., & Höflich, G. (2003). Influence of growth-promoting bacteria on the growth of wheat in different soils and temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, 35(7), 973-978.
- Egebo LA, Nielsen SV, Jochimsen BU. Oxygen-dependent catabolism of indole-3-acetic acid in *Bradyrhizobium japonicum* . *J Bacteriol*. 1991;173:4897–4901.
- Esquivel-Cote, R., Gavilanes-Ruiz, M., Cruz-Ortega, R., & Huante, P. (2013). Importancia agrobiotecnológica de la enzima ACC desaminasa en rizobacterias, una revisión. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(3), 251-258.
- Etesami, H., & Adl, S. M. (2020). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Action Mechanisms in Availability of Nutrients to Plants. In *Rhizosphere Engineering* (pp. 147-203). Springer.
- Fang, T., & Zhou, N. Y. (2014). Purification and characterization of salicylate 5-hydroxylase, a three-component monooxygenase from *Ralstonia* sp. strain U2. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(2), 671-679.
- Finkel, O. M., Salas-González, I., Castrillo, G., Conway, J. M., Law, T. F., Teixeira, P. J. P. L., Wilson, E. D., Fitzpatrick, C. R., Jones, C. D., & Dangl, J. L. (2020). A single bacterial genus maintains root growth in a complex microbiome. *Nature*, 587 (7832), 103–108.

- Finkel, O. M., Salas-González, I., Castrillo, G., Conway, J. M., Law, T. F., Teixeira, P. J. P. L., Wilson, E. D., Fitzpatrick, C. R., Jones, C. D., & Dangl, J. L. (2020). A single bacterial genus maintains root growth in a complex microbiome. *Nature*, 587(7832), 103–108.
- Forni, C., Duca, D., & Glick, B. R. (2017). Mechanisms of plant response to salt and drought stress and their alteration by rhizobacteria. *Plant and Soil*, 410(1), 335–356.
- Fuenmayor SL, Wild M, Boyes AL, Williams PA. A gene cluster encoding steps in conversion of naphthalene to gentisate in *Pseudomonas* sp. strain U2. *J Bacteriol*. 1998;180:2522–2530.
- Fuenmayor, S.L., Wild, M., Boyes, A.L., and Williams, P.A.(1998) A gene cluster encoding steps in conversion of naphthalene to gentisate in *Pseudomonas* sp. strain U2. *J Bacteriol* 180: 2522–2530.
- Gamalero, E., and Glick, B. R. (2012). “Plant growth-promoting bacteria and metal phytoremediation,” in *Phytotechnologies: Remediation of Environmental Contaminants*, eds N. A. Anjum, M.E. Pereira, I. Ahmad, A. C. Duarte, S. Umar, and N. A. Khan (Boca Raton, FL: CRC Press), 361–376.
- Gao, Q. M., Zhu, S., Kachroo, P., & Kachroo, A. (2015). Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers in plant science*, 6, 228.
- García de Salamone, I. E., Hynes, R. K., & Nelson, L. M. (2001). Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants. *Canadian Journal of microbiology*, 47(5), 404–411.
- Garcia, D. C., Cheng, X., Land, M. L., Standaert, R. F., Morrell-Falvey, J. L., & Doktycz, M. J. (2019). Computationally guided discovery and experimental validation of indole-3-acetic acid synthesis pathways. *ACS chemical biology*, 14(12), 2867–2875.
- Garcion C, Lohmann A, Lamodièrre E, Catinot J, Buchala A, Doermann P, Métraux JP. Characterization and biological function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE2 gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 2008;147:1279–87.
- Gaspar, T., Kevers, C., Hausman, J. F., Faivre-Rampant, O., Boyer, N., Dommes, J., Penel, C., & Greppin, H. (2000). Integrating phytohormone metabolism and action with primary biochemical pathways. I. Interrelationships between auxins, cytokinins, ethylene and polyamines in growth and development processes. Book Chapter, 1–25.
- Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1369.
- Giannelli, G., Bisceglie, F., Pelosi, G., Bonati, B., Cardarelli, M., Antenzio, M. L., Degola, F., & Visioli, G. (2022). Phyto-Beneficial Traits of Rhizosphere

Bacteria: In Vitro Exploration of Plant Growth Promoting and Phytopathogen Biocontrol Ability of Selected Strains Isolated from Harsh Environments. *Plants*, 11(2), 230.

Giannelli, G., Potestio, S., & Visioli, G. (2023). The contribution of PGPR in salt stress tolerance in crops: Unravelling the molecular mechanisms of cross-talk between plant and bacteria. *Plants*, 12(11), 2197.

Glick B.R, Jacobson CB, Schwarze MMK and Pasternak JJ (1994) 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase mutants of the plant-growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 do not stimulate canola root elongation. *Can. J. Microbiol.* 40:911-915.

Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 169(1), 30-39.

Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J., & Duan, J. (2007). Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. New perspectives and approaches in plant growth-promoting Rhizobacteria research, 329-339.

Glick, B. R., Penrose, D. M., & Li, J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *Journal of theoretical biology*, 190(1), 63-68.

Glick, B. R., Todorovic, B., Czarny, J., Cheng, Z., Duan, J., & McConkey, B. (2007). Promotion of plant growth by bacterial ACC deaminase. *Critical reviews in plant sciences*, 26(5-6), 227-242.

Glickmann, E., Dessaux, Y., 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 793–6.

Grant, D. J. W. (1971). Degradation of Acetylsalicylic Acid by a Strain of *Acinetobacter Iwoffii*. *Journal of Applied Microbiology*, 34(3), 459-468.

Grant, D. J. W. (1971). Degradation of Acetylsalicylic Acid by a Strain of *Acinetobacter Iwoffii*. *Journal of Applied Microbiology*, 34(3), 459-468.

Gray, E. J., & Smith, D. L. (2005). Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil biology and biochemistry*, 37(3), 395-412.

Greenhut, I.V., Slezak, B.L., and Leveau, J.H.J. (2018) iac gene expression in the indole-3-acetic acid-degrading soil bacterium *Enterobacter soli* LF7. *Appl Environ Microbiol* 84:1-18.

Grobelak, A., & Hiller, J. (2017). Bacterial siderophores promote plant growth: Screening of catechol and hydroxamate siderophores. *International journal of phytoremediation*, 19(9), 825-833.

- Grobelak, A., & Hiller, J. (2017). Bacterial siderophores promote plant growth: Screening of catechol and hydroxamate siderophores. *International journal of phytoremediation*, 19(9), 825-833.
- Großkinsky, D. K., Tafner, R., Moreno, M. V., Stenglein, S. A., García de Salamone, I. E., Nelson, L. M., ... & Roitsch, T. (2016). Cytokinin production by *Pseudomonas fluorescens* G20-18 determines biocontrol activity against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis*. *Scientific reports*, 6(1), 23310.
- Grover, A., Mittal, D., Negi, M., & Lavania, D. (2013). Generating high temperature tolerant transgenic plants: achievements and challenges. *Plant Science*, 205, 38-47.
- Gupta, A., Rai, S., Bano, A., Sharma, S., Kumar, R., Binsuwaidan, R., Khan, M. S., Upadhyay, T. K., Alshammari, N., Saeed, M., & Pathak, N. (2022). ACC Deaminase Produced by PGPR Mitigates the Adverse Effect of Osmotic and Salinity Stresses in *Pisum sativum* through Modulating the Antioxidants Activities. *Plants*, 11 (24), 3419.
- Guo, C. H., Shi, X. H., & Liu, J. L. (2011). Isolation of ACC Deaminase-Containing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria from *Porrum* Rhizosphere Soil. *Advanced Materials Research*, 240–243.
- Han, L., Zhang, H., Xu, Y., Li, Y., & Zhou, J. (2021). Biological characteristics and salt-tolerant plant growth-promoting effects of an ACC deaminase-producing *Burkholderia pyrrocinia* strain isolated from the tea rhizosphere. *Archives of Microbiology*, 203(5), 2279-2290.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews microbiology*, 2(1), 43-56.
- Harwood, C. S., & Parales, R. E. (1996). The β -ketoadipate pathway and the biology of self-identity. *Annual Review of Microbiology*, 50, 553–590.
- Harwood, C. S., & Parales, R. E. (1996). The β -ketoadipate pathway and the biology of self-identity. *Annual Review of Microbiology*, 50, 553–590.
- Ghosal, D., Ghosh, S., Dutta, T. K., & Ahn, Y. (2016). Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1369. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01369>
- Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Al-Huqail, A. A., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2016). The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and endophytic bacteria enhances plant growth of *Acacia gerrardii* under salt stress. *Frontiers in microbiology*, 7, 1089.
- Hassani, M. A., Durán, P., & Hacquard, S. (2018). Microbial interactions within the plant holobiont. *Microbiome*, 6(1), 58.

- Hayat, R., Ali, S., Amara, U., Khalid, R., & Ahmed, I. (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. *Annals of microbiology*, 60(4), 579-598.
- Hayat, S., Hasan, S. A., Fariduddin, Q., & Ahmad, A. (2008). Growth of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in response to salicylic acid under water stress. *Journal of plant interactions*, 3(4), 297-304.
- Hazarika, S. N., Saikia, K., Borah, A., & Thakur, D. (2021). Prospecting endophytic bacteria endowed with plant growth promoting potential isolated from *Camellia sinensis*. *Frontiers in Microbiology*, 12, 738058.
- He, C., Zhang, M., Li, X., & He, X. (2024). Seasonal dynamics of phyllosphere epiphytic microbial communities of medicinal plants in farmland environment. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1328586
- Herpell, J. B., Diallo, B., Schindler, F., & Weckwerth, W. (2023). Phyllosphere symbiont promotes plant growth through ACC deaminase production. *The ISME Journal*, 17, 1267–1277.
- Herrera Paredes S, Lebeis SL (2016) Giving back to the community: microbial mechanisms of plant–soil interactions. *Funct Ecol* 30: 1043–1052
- Hintner, J. P., Lechner, C., Riegert, U., Kuhm, A. E., Storm, T., Reemtsma, T., & Stolz, A. (2001). Direct Ring Fission of Salicylate by a Salicylate 1,2-Dioxygenase Activity from *Pseudaminobacter salicylatoxidans*. *Journal of Bacteriology*, 183(23), 6936-6942.
- Hintner, J.P., Lochner, C., Riegert, U., Kuhm, A.E., Storm, T., Roomtsma, T., and Stolz, A. (2001) Direct ring fission of salicylate by a salicylate 1,2-dioxygenase activity from *Pseudaminobacter salicylatoxidans*. *J Bacteriol* 183: 6936-6942.
- Hiremath, S., Prasanna, N., Swathi, S., Arvind, M., Kumar, A., Nigam, R., Kumar, S., & Elangovan, M. (2024). A Review on Role of Root Exudates in Shaping Plant-Microbe-Pathogen Interactions. *Journal of Advances in Microbiology*, 24(12), 1-19.
- Honma, M. (1983). Enzymatic determination of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 47(3), 617-618.
- Honma, M. (1985). Chemically reactive sulfhydryl groups of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Agricultural and biological chemistry*, 49(3), 567-571.
- Honma, M., & Shimomura, T. (1978). Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(10), 1825-1831.
- Honma, M., Kawai, J., & Yamada, M. (1993). Identification of the reactive sulfhydryl group of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 57(12), 2090-2093.

- Hontzeas, N., Hontzeas, C. E., & Glick, B. R. (2006). Reaction mechanisms of the bacterial enzyme 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Biotechnology advances*, 24(4), 420-426.
- Hua, L. I. N., Caixing, L. A. I., Guo, Y. U., Geoffrey, I. S., Liheng, L. I. U., & Jie, L. I. U. (2025). Root exudate-driven rhizospheric recruitment of plant growth-promoting rhizobacteria. *Pedosphere*, 35(1), 216-228.
- Huabing, Z., Bin, L., Lin, M., Yongjun, L., & Baoli, C. (2004). Nucleotide sequence analysis and enzyme characterization of the *Pseudomonas* sp. ND6 salicylate hydroxylase gene (nahG). *Nan kai da xue xue bao. Zi ran ke xue ban= Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 37(4), 95-99.
- Huang, J., Gu, M., Lai, Z., Fan, B., Shi, K., Zhou, Y.-H., Yu, J.-Q., & Chen, Z. (2010). Functional analysis of the *Arabidopsis* PAL gene family in plant growth, development, and response to environmental stress. *Plant Physiology*, 153(4), 1526–1538.
- Hutzing, O., & Kosuge, T. (1967). Microbial Synthesis and Degradation of Indole-3-acetic Acid II. The Source of Oxygen in the Conversion of L-tryptophan to Indole-3-acetamide. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 136(2), 389-391.
- Ishiyama, D., Vujaklija, D., and Davies, J. (2004) Novel path-way of salicylate degradation by *Streptomyces* sp. strainWA46. *Appl Environ Microbiol* 70: 1297–1306
- Ishiyama, D., Vujaklija, T. D., & Davies, J. (2004). Novel pathway of salicylate degradation by *Streptomyces* sp. Strain WA46. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1297-1306.
- Jacobson CB, Pasternak JJ and Glick BR (1994) Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant-growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can. J. Microbiol.*40:1019-1025.
- Jahn, L., Hofmann, U., & Ludwig-Müller, J. (2021). Indole-3-acetic acid is synthesized by the endophyte *Cyanoderma asteris* via a tryptophan-dependent and-independent way and mediates the interaction with a non-host plant. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(5), 2651.
- Jahn, L., Mucha, S., Bergmann, S., Horn, C., Staswick, P. E., Steffens, B., Siemens, J., & Ludwig-Müller, J. (2013). The clubroot pathogen (*Plasmodiophora brassicae*) influences auxin signaling to regulate auxin homeostasis in *Arabidopsis*. *Plants*, 2(4), 726–749
- Jaiswal, P., Kar, S., Misra, S., Dixit, V., Mishra, S. K., & Chauhan, P. S. (2022). Novel trends in endophytic applications for plant disease management. In *Biocontrol mechanisms of endophytic microorganisms* (pp. 167-180). Academic Press.

- Jensen, J. B., Egsgaard, H., Van Onckelen, H. A. R. R. Y., & Jochimsen, B. U. (1995). Catabolism of indole-3-acetic acid and 4- and 5-chloroindole-3-acetic acid in *Bradyrhizobium japonicum*. *Journal of Bacteriology*, 177(20), 5762-5766.
- Jensen, J.B., Egsgaard, H., Van Onckelen, H., and Jochimsen, B.U. (1995) Catabolism of indole-3-acetic acid and 4- and 5-chloroindole-3-acetic acid in *Bradyrhizobium japonicum*. *J Bacteriol* 177: 5762–5766
- Jiang, H., Xu, X., Lv, L., Huang, X., Ahmed, T., Tian, Y., Hu, S., Chen, J., & Li, B. (2024). Host Metabolic Alterations Mediate Phyllosphere Microbes Defense upon *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* Infection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 73(1), 249-259.
- John, P., Miller, P., & Miller, A. J. (1985). Activity of the ethylene-forming enzyme measured in vivo at different cell potentials. *Journal of plant physiology*, 121(5), 397-406.
- Jones, J. D., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *nature*, 444(7117), 323-329.
- Jouanneau, Y., Micoud, J., & Meyer, C. (2007). Purification and characterization of a three-component salicylate 1-hydroxylase from *Sphingomonas* sp. strain CHY-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(23), 7515-7525.
- Jung, S. C., Martinez-Medina, A., Lopez-Raez, J. A., & Pozo, M. J. (2012). Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses. *Journal of chemical ecology*, 38(6), 651-664.
- Kabir, M. H., Unban, K., Kodchasee, P., Govindarajan, R. K., Lumyong, S., Suwannarach, N., ... & Khanongnuch, C. (2023). Endophytic Bacteria Isolated from Tea Leaves (*Camellia sinensis* var. *assamica*) Enhanced Plant-Growth-Promoting Activity. *Agriculture*, 13(3), 533.
- Kanehisa, M. (2019). Toward understanding the origin and evolution of cellular organisms. *Protein science*, 28(11), 1947-1951.
- Kanehisa, M., & Goto, S. (2000). KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic acids research*, 28(1), 27-30.
- Kanehisa, M., Furumichi, M., Sato, Y., Ishiguro-Watanabe, M., & Tanabe, M. (2021). KEGG: integrating viruses and cellular organisms. *Nucleic acids research*, 49(D1), D545-D551.
- Karadeniz, A. S. U. M. A. N., Topcuoğlu, Ş. F., & İnan, S. Ü. H. E. Y. L. A. (2006). Oksin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(10), 1061-1064.
- Kaur, M., & Sodhi, H. S. (2022). Implication of microbial signals: plant communication. In *Plant-microbe interactions* (pp. 41-57). CRC Press.

- Kaur, T., Devi, R., Kour, D., Yadav, A., Yadav, A. N., Dikilitas, M., Abdel-Azeem, A. M., Ahluwalia, A. S., & Saxena, A. K. (2021). Plant growth promoting soil microbiomes and their potential implications for agricultural and environmental sustainability. *Biologia*, 76(8), 2687-2709.
- Kawasaki A, Donn S, Ryan PR, Mathesius U, Devilla R, Jones A, Watt M (2016) Microbiome and exudates of the root and rhizosphere of *Brachypodium distachyon*, a model for wheat. *PLoS ONE* 11: 1–4
- Ke, Z., Zhu, Q., Zhang, M., Gao, S., Jiang, M., Zhou, Y., Qiu, J., Cheng, M., Yan, X., Wang, J., & Hong, Q. (2023). Unveiling the regulatory mechanisms of salicylate degradation gene cluster *cehGHIR4* in *Rhizobium* sp. strain X9. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(11), e00802-23.
- Khan, A. L., Hamayun, M., Kim, Y. H., Kang, S. M., Lee, J. H., & Lee, I. J. (2011). Gibberellins producing endophytic *Aspergillus fumigatus* sp. LH02 influenced endogenous phytohormonal levels, isoflavonoids production and plant growth in salinity stress. *Process biochemistry*, 46(2), 440-447.
- Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in plant science*, 6, 462.
- Khan, Z., & Doty, S. L. (2009). Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant and soil*, 322(1), 197-207.
- Kim, D. S., & Hwang, B. K. (2014). An important role of the pepper phenylalanine ammonia-lyase gene (*PAL1*) in salicylic acid-dependent signalling of the defence response to microbial pathogens. *Journal of experimental botany*, 65(9), 2295-2306.
- Klee, H. J., Hayford, M. B., Kretzmer, K. A., Barry, G. F., & Kishore, G. M. (1991). Control of ethylene synthesis by expression of a bacterial enzyme in transgenic tomato plants. *The Plant Cell*, 3(11), 1187-1193.
- Kloepper, J. W., & Schroth, M. N. (1981). Relationship of in vitro antibiosis of plant growth-promoting rhizobacteria to plant growth and the displacement of root microflora. *Phytopathology*, 71(10), 1020-1024.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., & Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11), 1259-1266.
- Koga, J., Adachi, T., & Hidaka, H. (1991). Molecular cloning of the gene for indolepyruvate decarboxylase from *Enterobacter cloacae*. *Molecular and General Genetics MGG*, 226(1), 10-16.
- Korenblum E, Aharoni A (2019) Phytobiome metabolism: beneficial soil microbes steer crop plants' secondary metabolism. *Pest Manag Sci* 75: 2378–2384

- Korenblum, E., Dong, Y., Szymanski, J., Panda, S., Jozwiak, A., Massalha, H., Meir, S., Rogachev, I., & Aharoni, A. (2020). Rhizosphere microbiome mediates systemic root metabolite exudation by root-to-root signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(7), 3874–3883.
- Korenblum, E., Massalha, H., & Aharoni, A. (2022). Plant–microbe interactions in the rhizosphere via a circular metabolic economy. *The Plant Cell*, 34(9), 3168–3182.
- Kosuge, T., Heskett, M. G., & Wilson, E. E. (1966). Microbial synthesis and degradation of indole-3-acetic acid: I. the conversion of l-tryptophan to indole-3-acetamide by an enzyme system from *Pseudomonas savastanoi*. *Journal of Biological Chemistry*, 241(16), 3738–3744.
- Kudoyarova, G., Arkhipova, T., Korshunova, T., Bakaeva, M., Loginov, O., & Dodd, I. C. (2019). Phytohormone mediation of interactions between plants and non-symbiotic growth promoting bacteria under edaphic stresses. *Frontiers in plant science*, 10, 1368.
- Kui, L., Xiang, G., Wang, Y., Wang, Z., Li, G., Li, D., Zhang, Y., Zhao, H., & Dong, Y. (2021). Large-scale characterization of the soil microbiome in ancient tea plantations using high-throughput 16S rRNA and internal transcribed spacer amplicon sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 12, 745225.
- Kulaeva, O. N., & Prokoptseva, O. S. (2004). Recent advances in the study of mechanisms of action of phytohormones. *Biochemistry*, 69(3)
- Kumar, L., Meena, N. L., & Singh, U. (2016). Role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in food legumes. In *Biofortification of food crops* (pp. 291–302). New Delhi: Springer India.
- Kunkel BN, Harper CP (2018) The roles of auxin during interactions between bacterial plant pathogens and their hosts. *J Exp Bot* 69: 245–254
- Kumar, M., & Gopal, M. (2015). Effect of environmental stressors on bioremediation of aromatic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4), 2771–2782
- Kumari, S., Varma, A., Tuteja, N., & Choudhary, D. K. (2016). Bacterial ACC-deaminase: An Eco-friendly Strategy to Cope Abiotic Stresses for Sustainable Agriculture (pp. 165–185). Springer, Singapore.
- Laird, T. S., Flores, N., & Leveau, J. H. (2020). Bacterial catabolism of indole-3-acetic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(22), 9535–9550.
- Laird, T. S., Flores, N., & Leveau, J. H. (2020). Bacterial catabolism of indole-3-acetic acid. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(22), 9535–9550.
- Laird, T. S., Flores, N., & Leveau, J. H. (2020). Bacterial catabolism of indole-3-acetic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104, 9535–9550.

- Lakkannavar, C., Swamy, M., Yallappa, Gouda, P., & Ramesh, Y. M. (2024). Morphological and Biochemical Characterization of Phyllosphere Bacteria. *Microbiology Research Journal International*, 34(11), 425.
- Lawongsa, P., Boonkerd, N., Wongkaew, S., O’Gara, F., & Teaumroong, N. (2008). Molecular and phenotypic characterization of potential plant growth-promoting *Pseudomonas* from rice and maize rhizospheres. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(9), 1877-1884.
- Lebeis, S. L., Paredes, S. H., Lundberg, D. S., Breakfield, N., Gehring, J., McDonald, M., Malfatti, S., Del Rio, T. G., Jones, C. D., Tringe, S. G., & Dangl, J. L. (2015). Salicylic acid modulates colonization of the root microbiome by specific bacterial taxa. *Science*, 349(6250), 860–864
- Ledger T, Rojas S, Timmermann T, Pinedo I, Poupin MJ, Garrido T, Richter P, Tamayo J, Donoso R (2016) Volatile-mediated effects predominate in Paraburkholderia phytofirmans growth promotion and salt stress tolerance of *Arabidopsis thaliana*. *Front Microbiol* 7: 1838
- Leontovyčová, H., Trdá, L., Dobrev, P. I., Šašek, V., Gay, E., Balesdent, M. H., & Burketová, L. (2020). Oksin biosynthesis in the phytopathogenic fungus *Leptosphaeria maculans* is associated with enhanced transcription of indole-3-pyruvate decarboxylase LmIPDC2 and tryptophan aminotransferase LmTAM1. *Research in Microbiology*, 171(5-6), 174-184.
- Leveau JHJ, Gerards S (2008) Discovery of a bacterial gene cluster for catabolism of the plant hormone indole 3-acetic acid. *FEMS Microbiol Ecol* 65:238–250
- Leveau, J. H., & Lindow, S. E. (2005). Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *Applied and environmental microbiology*, 71(5), 2365-2371.
- Leveau, J. H., & Lindow, S. E. (2005). Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain 1290. *Applied and environmental microbiology*, 71(5), 2365-2371.
- Li W, Wang D, Hu F, Li H, Ma L, Xu L (2016) Exogenous IAA treatment enhances phytoremediation of soil contaminated with phenanthrene by promoting soil enzyme activity and increasing microbial biomass. *Environ Sci Pollut Res* 23:10656–10664
- Li, Y., Shi, C., Wei, D. H. U. L., Ding, J., Xu, N., Jin, L., & Wang, L. (2023). Associations of soil bacterial diversity and function with plant diversity in *Carex tussock* wetland. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1142052.
- Liang, X., Abel, S., Keller, J. A., Shen, N. F., & Theologis, A. (1992). The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(22), 11046-11050.

- Libbert E, Risch H (1969) Interactions between plants and epiphytic bacteria regarding their oksin metabolism: V. Isolation and identification of the IAA-producing and destroying bacteria from pea plants. *Physiol Plant* 22:51–58
- Lieberman, M., Kunishi, A. T., Mapson, L. W., & Wardale, D. A. (1965). Ethylene production from methionine. *Biochemical Journal*, 97(2), 449-459.
- Limtong S, Koowadjanakul N (2012) Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World J Microbiol Biotechnol* 28:3323–3335
- Lin H-R, Shu H-Y, Lin G-H (2018) Biological roles of indole-3-acetic acid in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiol Res* 216:30–39
- Lin, L., & Xu, X. (2013). Indole-3-acetic acid production by endophytic *Streptomyces* sp. En-1 isolated from medicinal plants. *Current Microbiology*, 67(2), 209-217.
- Lin, Z., Zhong, S., & Grierson, D. (2009). Recent advances in ethylene research. *Journal of experimental botany*, 60(12), 3311-3336.
- Lindow SE, Brandl MT (2003) Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol* 69:1875–1883
- Lindow SE, Desurmont C, Elkins R, McGourty G, Clark E, Brandl MT (1998) Occurrence of indole-3-acetic acid-producing bacteria on pear trees and their association with fruit russet. *Phytopathology* 88:1149–1157
- Liu, T., Song, T., Zhang, X., Yuan, H., Su, L., Li, W., Xu, J., Liu, S., Chen, L., Chen, T., Zhang, M., Gu, L., Zhang, B., Dou, D., & Dong, S. (2014). Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis. *Nature Communications*, 5(1), 4686.
- Liu, H., Chen, G. H., Sun, J. J., Chen, S., Fang, Y., & Ren, J. H. (2022). Isolation, characterization, and tea growth-promoting analysis of JW-CZ2, a bacterium with 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity isolated from the rhizosphere soils of tea plants. *Frontiers in Microbiology*, 13, 792876.
- Ljung, K., Hull, A. K., Kowalczyk, M., Marchant, A., Celenza, J., Cohen, J. D., & Sandberg, G. (2002). Biosynthesis, conjugation, catabolism and homeostasis of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis thaliana*. *Plant molecular biology*, 49(3), 249-272.
- Lieberman, M., & Mapson, L. W. (1964). Genesis and biogenesis of ethylene.
- Lu, S., Feng, L., Zhou, D., Jia, M., Liu, Z., Hou, Z., Li, Q., & Yu, J. (2022). Complete Genome Sequence of *Bacillus subtilis* CNBG-PGPR-1 for Studying the Promotion of Plant Growth. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 35(12), 1115-1119.
- Lubbers, R. J. M., Dilokpimol, A., Visser, J., Hildén, K., Mäkelä, M. R., & de Vries, R. P. (2021). Discovery and functional analysis of a salicylic acid hydroxylase

- from *Aspergillus niger*. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(6), e02701-20.
- Ludwig-Müller, J. (2011). Oksin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. *Journal of experimental botany*, 62(6), 1757-1773.
- Lugtenberg B, Kamilova F (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu Rev Microbiol* 63: 541–556
- Lugtenberg Groleau-Renaud V, Plantureux S, Tubeileh A, Guckert A (2000) Influence of microflora and composition of root bathing solution on root exudation of maize plants. *J Plant Nutr* 23: 1283–1301
- Lugtenberg, B., and Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63, 541–556. doi: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918
- Luziatelli, F., Ficca, A. G., Bonini, P., Muleo, R., Gatti, L., Meneghini, M., Emiliani, G., Melini, F., & Ruzzi, M. (2020). A genetic and metabolomic perspective on the production of indole-3-acetic acid by *Pantoea agglomerans* and use of their metabolites as biostimulants in plant nurseries. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1475
- Lynch, J., Marschner, P., & Rengel, Z. (2012). Effect of internal and external factors on root growth and development. In *Marschner's mineral nutrition of higher plants* (pp. 331-346). Academic Press.
- Ma WB, Sebastianova SB, Sebastian J, Burd GI, Guinel FC and Glick BR (2003) Prevalence of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase in *Rhizobium* spp. *Antonie Van Leeuwenhoek* 83:285-291.
- Ma, Y., Li, X., Wang, F., Zhang, L., Che, X., Yu, D., Liu, X., Li, Z., Sun, H., Yu, G., & Zhang, H. (2022). Molecular Mechanism for Bacterial Degradation of Plant Hormone Oksin. *bioRxiv*.
- Magie, A. R., Wilson, E. E., & Kosuge, T. (1963). Indoleacetamide as an intermediate in the synthesis of indoleacetic acid in *Pseudomonas savastanoi*. *Science*, 141(3587), 1281-1282.
- Malhotra, M., & Srivastava, S. (2008). Organization of the *ipdC* region regulates IAA levels in different *Azospirillum brasilense* strains: molecular and functional analysis of *ipdC* in strain SM. *Environmental Microbiology*, 10(5), 1365-1373.
- Manganiello, G., Sacco, A., Ercolano, M. R., Vinale, F., Lanzuise, S., Pascale, A., ... & Woo, S. L. (2018). Modulation of tomato response to *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* and its secondary metabolite harzianic acid. *Frontiers in microbiology*, 9, 1966.

- Martinez-Medina, A., Flors, V., Heil, M., Mauch-Mani, B., Pieterse, C. M., Pozo, M. J., ... & Conrath, U. (2016). Recognizing plant defense priming. *Trends in plant science*, 21(10), 818-822.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D. E., Gajardo, G. M. L. M., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.
- Maruri-López, I., Aviles-Baltazar, N. Y., Buchala, A., & Serrano, M. (2019). Intra and extracellular journey of the phytohormone salicylic acid. *Frontiers in Plant Science*, 10, 423.
- Matthysse, A. G., & Scott, T. K. (1984). Functions of Hormones at the Whole Plant Level of Organization. In Book Chapter (pp. 159-179).
- Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM (2013) The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol Rev* 37: 634–663
- Métraux JP, Raskin I. Role of phenolics in plant disease resistance. In: Chet I, editor. *Biotechnology in plant disease control*. New York: Wiley; 1993. p. 191–209.
- microbiome. *Nature*, 587(7832), 103-108.
- Mino Y (1970) Studies on the destruction of indole-3-acetic acid by a species of *Arthrobacter* IV. Decomposition products. *Plant Cell Physiol* 11:129–138
- Mishra, A. K., & Baek, K. H. (2021). Salicylic acid biosynthesis and metabolism: a divergent pathway for plants and bacteria. *Biomolecules*, 11(5), 705.
- Mishra, A. K., & Baek, K. H. (2021). Salicylic Acid Biosynthesis and Metabolism: A Divergent Pathway for Plants and Bacteria. *Biomolecules*, 11(5), 705.
- Mishra, A. K., & Baek, K. H. (2021). Salicylic acid biosynthesis and metabolism: a divergent pathway for plants and bacteria. *Biomolecules*, 11(5), 705.
- Mishra, A. K., Sudalaimuthasari, N., Hazzouri, K. M., Saeed, E. E., Shah, I., & Amiri, K. M. A. (2022). Tapping into Plant–Microbiome Interactions through the Lens of Multi-Omics Techniques. *Cells*, 11(20), 3254.
- Miyazaki, J. H., & Yang, S. F. (1987). The methionine salvage pathway in relation to ethylene and polyamine biosynthesis. *Physiologia Plantarum*, 69(2).
- Moon, Y. S., & Ali, S. (2022). Possible mechanisms for the equilibrium of ACC and role of ACC deaminase-producing bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 106(3), 877-887.
- Morffy N, Strader LC (2020) Old town roads: routes of oxin biosynthesis across kingdoms. *Curr Opin Plant Biol* 55:21–27

- Murr, D. P., & Yang, S. F. (1975). Conversion of 5'-methylthioadenosine to methionine by apple tissue. *Phytochemistry*, 14(5-6), 1291-1292.
- Nadeem, S. M., Ahmad, M., Zahir, Z. A., Javaid, A., & Ashraf, M. (2014). The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnology advances*, 32(2), 429-448..
- Nahar, Mst. H. K., Briste, P. S., Islam, Md. R., Rahman, T., Rubayet, Md. T., Hossain, Md. M., & Mostofa, M. G. (2024.). Phyllosphere antagonistic bacteria induces growth promotion and effective anthracnose control in cucumber. . *Research Square* (preprint)
- Nakkeeran, S., Fernando, W. D., & Siddiqui, Z. A. (2005). Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In *PGPR: biocontrol and biofertilization* (pp. 257-296). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Nascimento, F. X., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2019). Isolation and characterization of novel soil- and plant-associated bacteria with multiple phytohormone-degrading activities using a targeted methodology. *Access Microbiology*, 1(9), 000053.
- Nascimento, F. X., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2021). Multiple plant hormone catabolism activities: an adaptation to a plant-associated lifestyle by *Achromobacter* spp. *Environmental Microbiology Reports*, 13(4), 533-539.
- Nascimento, F. X., Glick, B. R., & Rossi, M. J. (2019). Isolation and characterization of novel soil-and plant-associated bacteria with multiple phytohormone-degrading activities using a targeted methodology. *Access Microbiology*, 1(7).
- Nascimento, F. X., Rossi, M. J., Soares, C. R., McConkey, B. J., & Glick, B. R. (2014). New insights into 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase phylogeny, evolution and ecological significance. *PLoS One*, 9(6), e99168.
- Navarro L Dunoyer P Jay F Arnold B Dharmasiri N Estelle M Voinnet O Jones JDG (2006) A plant miRNA contributes to antibacterial resistance by repressing oksin signaling . *Science*312 : 436 – 439.
- Nawrath C, Métraux JP. Salicylic acid induction-deficient mutants of *Arabidopsis* express PR-2 and PR-5 and accumulate high levels of camalexin after pathogen inoculation. *Plant Cell*. 1999;11:1393–404.
- Naz, I., Bano, A., & Ul-Hassan, T. (2009). Isolation of phytohormones producing plant growth promoting rhizobacteria from weeds growing in Khewra salt range, Pakistan and their implication in providing salt tolerance to *Glycine max* L. *African Journal of Biotechnology*, 8(21).

- Oberhänsli, T., Défago, G., & Haas, D. (1991). Indole-3-acetic acid (IAA) synthesis in the biocontrol strain CHA0 of *Pseudomonas fluorescens*: role of tryptophan side chain oxidase. *Microbiology*, 137(10), 2273-2279.
- Ohmoto, T., Sakai, K., Hamada, N., & Ohe, T. (1991). Salicylic Acid Metabolism through a Gentisate Pathway by *Pseudomonas* sp. TA-2. *Agricultural and Biological Chemistry*, 55(7), 1733-1739.
- Oliva, R., Win, J., Raffaele, S., Boutemy, L. S., Bozkurt, T. O., Chaparro-Garcia, A., Segretin, M. E., Stam, R., Schornack, S., Cano, L. M., van Damme, M., Huitema, E., Thines, M., Banfield, M. J., & Kamoun, S. (2010). Recent developments in effector biology of filamentous plant pathogens: Corrigendum. *Cellular Microbiology*, 12(6), 705–715
- Ongena, M., and Jacques, P. (2008). *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 16, 115–125.
- Onofre-Lemus, J., Hernández-Lucas, I., Girard, L., & Caballero-Mellado, J. (2009). ACC (1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate) Deaminase Activity, a Widespread Trait in Burkholderia Species, and Its Growth-Promoting Effect on Tomato Plants. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(20), 6581–6590.
- Orlikowska, T., Nowak, K., and Reed, B. (2017). Bacteria in the plant tissue culture environment. *Plant Cell Tiss. Organ. Cult.* 128, 487–508. doi: 10.1007/s11240-016-1144-9
- Orozco-Mosqueda, M. D. C., Santoyo, G., & Glick, B. R. (2023). Recent advances in the bacterial phytohormone modulation of plant growth. *Plants*, 12(3), 606.
- Ortiz-Castro, R., Díaz-Pérez, C., Martínez-Trujillo, M., del Río, R. E., Campos-García, J., & López-Bucio, J. (2011). Transkingdom signaling based on bacterial cyclodipeptides with oxin activity in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(17), 7253-7258.
- Ose, T., Fujino, A., Yao, M., Watanabe, N., Honma, M., & Tanaka, I. (2003). Reaction intermediate structures of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase: insight into PLP-dependent cyclopropane ring-opening reaction. *Journal of Biological Chemistry*, 278(42), 41069-41076.
- Pallas JA, Paiva NL, Lamb C, Dixon RA. Tobacco plants epigenetically suppressed in phenylalanine ammonia-lyase expression do not develop systemic acquired resistance in response to infection by tobacco mosaic virus. *Plant J.* 1996;10:281–93.
- Paredes-Páliz, K. I., Caviedes, M. A., Doukkali, B., Mateos-Naranjo, E., Rodríguez-Llorente, I. D., & Pajuelo, E. (2016). Screening beneficial rhizobacteria from *Spartina maritima* for phytoremediation of metal polluted salt marshes:

- comparison of gram-positive and gram-negative strains. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(19), 19825-19837.
- Paredes-Páliz, K. I., Mateos-Naranjo, E., Doukkali, B., Caviedes, M. A., Redondo-Gómez, S., Rodríguez-Llorente, I. D., & Pajuelo, E. (2017). Modulation of *Spartina densiflora* plant growth and metal accumulation upon selective inoculation treatments: A comparison of gram negative and gram positive rhizobacteria. *Marine pollution bulletin*, 125(1-2), 77-85.
- Paredes-Páliz, K. I., Pajuelo, E., Doukkali, B., Caviedes, M. Á., Rodríguez-Llorente, I. D., & Mateos-Naranjo, E. (2016). Bacterial inoculants for enhanced seed germination of *Spartina densiflora*: Implications for restoration of metal polluted areas. *Marine pollution bulletin*, 110(1), 396-400.
- Park, J., Lee, Y., Martinoia, E., & Geisler, M. (2017). Plant hormone transporters: what we know and what we would like to know. *BMC biology*, 15(1), 93.
- Pascale, A., Proietti, S., Pantelides, I. S., & Stringlis, I. A. (2020). Modulation of the root microbiome by plant molecules: the basis for targeted disease suppression and plant growth promotion. *Frontiers in plant science*, 10, 1741.
- Patel, R. N., & Goyal, A. (2013). Microbial degradation of aromatic compounds: biochemical and molecular aspects. In *Environmental Microbiology* (pp. 67–89). Springer
- Patel, R. N., & Goyal, A. (2013). Microbial degradation of aromatic compounds: biochemical and molecular aspects. In *Environmental Microbiology* (pp. 67–89). Springer.
- Patten CL, Blakney AJC, Coulson TJD (2013) Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. *Crit Rev Microbiol* 39:395–415 Peleg AY, Seifert H, Paterson DL (2
- Patten, C. L., Blakney, A. J., & Coulson, T. J. (2013). Activity, distribution and function of indole-3-acetic acid biosynthetic pathways in bacteria. *Critical reviews in microbiology*, 39(4), 395-415.
- Penrose, D.M., Glick, B.R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growthpromoting rhizobacteria. *Physiol. Plant.* 118, 10–15.
- Pieterse CMJ, Zamioudis C, Berendsen RL, Weller DM, Van Wees SCM, Bakker PAHM (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol* 52: 347–375
- Pieterse, C. M., Leon-Reyes, A., Van der Ent, S., & Van Wees, S. C. (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature chemical biology*, 5(5), 308-316.

- Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual review of phytopathology*, 52(1), 347-375.
- Plach, M. G., Löffler, P., Merkl, R., & Sterner, R. (2015). Conversion of anthranilate synthase into isochorismate synthase: implications for the evolution of chorismate-utilizing enzymes. *Angewandte Chemie International Edition*, 54(38), 11270-11274.
- Plett, J. M., & Martin, F. M. (2018). Know your enemy, embrace your friend: using omics to understand how plants respond differently to pathogenic and mutualistic microorganisms. *The Plant Journal*, 93(4), 729-746.
- Pozdnyakova-Filatova, I., Petrikov, K., Vetrova, A., Frolova, A., Streletskii, R., & Zakharova, M. (2020). The naphthalene catabolic genes of *Pseudomonas putida* BS3701: additional regulatory control. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1217.
- Prinsen, E., Costacurta, A., Michiels, K., Vanderleyden, J., & Van Onckelen, H. (1993). *Azospirillum brasilense* indole-3-acetic acid biosynthesis: evidence for a non-tryptophan dependent pathway. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 6, 609-609.
- Proctor MH (1958) Bacterial dissimilation of indoleacetic acid: a new route of breakdown of the indole nucleus. *Nature* 181:1345
- Qi, G., Chen, J., Chang, M., Chen, H., Hall, K., Korin, J., & Fu, Z. Q. (2018). Pandemonium breaks out: Disruption of salicylic acid-mediated defense by plant pathogens. *Molecular Plant*, 11(12), 1427–1439.
- Raaijmakers JM, Paulitz TC, Steinberg C, Alabouvette C, Moe"nneLoccoz Y (2009) The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant Soil* 321: 341–361
- Raaijmakers, J. M., De Bruijn, I., Nybroe, O., & Ongena, M. (2010). Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS microbiology reviews*, 34(6), 1037-1062.
- Rabus R, Widdel F (1995) Anaerobic degradation of ethylbenzene and other aromatic hydrocarbons by new denitrifying bacteria. *Arch Microbiol* 163:96–103
- Raghuwanshi, R., & Prasad, J. K. (2018). Perspectives of Rhizobacteria with ACC Deaminase Activity in Plant Growth Under Abiotic Stress (pp. 303–321). Springer, Cham.
- Rai, M., & Varma, A. (2005). Arbuscular mycorrhiza-like biotechnological potential of *Piriformospora indica*, which promotes the growth of *Adhatoda vasica* Nees. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8(1), 1-6.

- Reid DE, Ferguson BJ, Hayashi S, Lin YH, Gresshoff PM (2011) Molecular mechanisms controlling legume autoregulation of nodulation. *Ann Bot* 108: 789–795
- Reinhold-Hurek B, B"unger W, Burbano CS, Sabale M, Hurek T (2015) Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity. *Annu Rev Phytopathol* 53: 403–424
- Remans R Spaepen S Vanderleyden J (2006) Oksin signaling in plant defense . *Science* 313 : 171 .
- Richardson, A., Kawasaki, A., Condrón, L. M., Ryan, P. R., & Gupta, V. V. S. R. (2021). Root Microbiome Structure and Microbial Succession in the Rhizosphere. In *Rhizosphere Biology: Interactions Between Microbes and Plants* (pp. 99-126). Springer.
- Romero, F. M., Marina, M., & Pieckenstain, F. L. (2014). The communities of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) leaf endophytic bacteria, analyzed by 16S-ribosomal RNA gene pyrosequencing. *FEMS Microbiology Letters*, 351(2), 187-194.
- Rosenberg E, Sharon G, Zilber-Rosenberg I (2009) The hologenome theory of evolution contains Lamarckian aspects within a Darwinian framework. *Environ Microbiol* 11: 2959–2962
- Rouphael, Y., & Colla, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: Designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, 9, 1655.
- Ruanpanun, P., Tangchitsomkid, N., Hyde, K. D., & Lumyong, S. (2010). Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(9), 1569-1578.
- Ruiz-Lozano, J. M., Porcel, R., Azcon, C., & Aroca, R. (2012). Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4033-4044.
- Ruzzi, M., & Aroca, R. (2015). Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 124-134.
- Ryu, R. J., & Patten, C. L. (2008). Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Journal of bacteriology*, 190(21), 7200-7208.
- Saghafi, D., Lajayer, B. A., & Ghorbanpour, M. (2020). Engineering bacterial ACC deaminase for improving plant productivity under stressful conditions (pp. 259–277). Academic Press.

- Salomon, M. V., & Bottini Filho, R. (2014). GADS, Cohen AC, Moreno D, Gil M, et al. Bacteria isolated from roots and rhizosphere of [i] *Vitis vinifera* [/i] retard water losses, induce abscisic acid accumulation and synthesis of defense-related terpenes in [i] in vitro [/i] cultured grapevine. *Physiol Plant*, 359-74.
- Samad, A., Brader, G., Pfaffenbichler, N., & Sessitsch, A. (2019). Plant-Associated Bacteria and the Rhizosphere. In *Bacterial Endophytes for Sustainable Agriculture* (pp. 177-196). CRC Press
- Sanjenbam, P., & Agashe, D. (2024). Divergence and convergence in epiphytic and endophytic phyllosphere bacterial communities of rice landraces. *Mosphere*, 9(11), e00765-24.
- Sarker, A., Mitra, D., Das Mohapatra, P. K., Ansary, M. W. R., & Islam, T. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria as biostimulants in sustainable crop production. In *Biostimulants for crop production and sustainable agriculture* (pp. 455-483). GB: CABI.
- Sazonova, O. I., Izmalkova, T. Y., Kosheleva, I. A., & Boronin, A. M. (2008). Salicylate degradation by *Pseudomonas putida* strains not involving the "classical" nah2 operon. *Microbiology*, 77(6), 720-728.
- Schlaeppli, K., & Bulgarelli, D. (2015). The plant microbiome at work. *Molecular Plant-microbe interactions*, 28(3), 212-217.
- Schütz, A., Golbik, R., Tittmann, K., Svergun, D. I., Koch, M. H., Hübner, G., & König, S. (2003). Studies on structure–function relationships of indolepyruvate decarboxylase from *Enterobacter cloacae*, a key enzyme of the indole acetic acid pathway. *European Journal of Biochemistry*, 270(10), 2322-2331.
- Scott JC, Greenhut IV, Leveau JHJ. Functional characterization of the bacterial IAC genes for
- Seif El-Yazal, S. A., & Seif El-Yazal, M. A. (2015). Phytohormone crosstalk research: cytokinin and its crosstalk with other phytohormones. *Current Protein and Peptide Science*, 16(5).
- Semenzato, G., & Fani, R. (2024). Endophytic bacteria: a sustainable strategy for enhancing medicinal plant cultivation and preserving microbial diversity. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1477465.
- Serrão, C. P., Tadaiesky, L. B., & de Souza, C. R. (2024). How can Endophytic Bacteria Benefit Agronomically Important Plants by Protecting Against Pathogens?. In *Molecular and Physiological Insights into Plant Stress Tolerance and Applications in Agriculture-Part 2* (pp. 270-300). Bentham Science Publishers.
- Sezgin, M., & Kahya, M. (2018). “Phytohormones”, *Bitlis Eren University Journal of Science and Technology*, vol. 8, no. 1, pp. 35–39,

- Sgro, V., Cassán, F., Masciarelli, O., Del Papa, M. F., Lagares, A., & Luna, V. (2009). Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Applied microbiology and Biotechnology*, 85(2), 371-381.
- Shah S, Li JP, Moffatt BA and Glick BR (1998) Isolation and characterization of ACC deaminase genes from two different plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.*44:833-843.
- Shi L, Du N, Shu S, Sun J, Li S, Guo S (2017) *Paenibacillus polymyxa* NSY50 suppresses *Fusarium* wilt in cucumbers by regulating the rhizospheric microbial community. *Sci Rep* 7: 41234
- Shoresh, M., Harman, G. E., & Mastouri, F. (2010). Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual review of phytopathology*, 48(1), 21-43.
- Shrivastava, U. P., & Kumar, A. (2013). Characterization and optimization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACCD) activity in different rhizospheric PGPR along with *Microbacterium* sp. strain ECI-12A. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(1), 11-15.
- Shukuru, B. N., Raj, A. S., Kumar, D., Singh, S., & Kumar, G. (2024). Phyllosphere endophytic bacteria: diversity and biotechnological potential. In *Endophytes in Agriculture and Biotechnology* (pp. 19-1).
- Shyam, M., Shilkar, D., Verma, H., Dev, A., Sinha, B. N., Brucoli, F., Thomas, S., Singh, A., & Jayaprakash, V. (2021). The mycobactin biosynthesis pathway: A prospective therapeutic target in the battle against tuberculosis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(1), 71–100.
- Singh, R. P., Shelke, G. M., Kumar, A., & Jha, P. N. (2015). Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants. *Frontiers in microbiology*, 6, 937.
- Sisler EC and Serek M (1997) Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. *Physiologia Plantarum*100:577-582.
- Soliman, S. S. M., El-Keblawy, A., Mosa, K. A., Mosa, K. A., Helmy, M., & Wani, S. H. (2018). Understanding the Phytohormones Biosynthetic Pathways for Developing Engineered Environmental Stress-Tolerant Crops (pp. 417–450). Springer, Cham.
- Sorty, A. M., Meena, K. K., Choudhary, K., Bitla, U. M., Minhas, P. S., & Krishnani, K. K. (2016). Effect of plant growth promoting bacteria associated with halophytic weed (*Psoralea corylifolia* L) on germination and seedling growth of wheat under saline conditions. *Applied biochemistry and biotechnology*, 180(5), 872-882.

- Spaepen S, Vanderleyden J (2011) Oksin and plant-microbe interactions. Cold Spring Harb Perspect Biol 3:a001438
- Spaepen, S., & Vanderleyden, J. (2011). Oksin and plant-microbe interactions. Cold Spring Harbor perspectives in biology, 3(4), a001438.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. FEMS microbiology reviews, 31(4), 425-448.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. FEMS microbiology reviews, 31(4), 425-448.
- Steffens, B., Wang, J., & Sauter, M. (2006). Interactions between ethylene, gibberellin and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deepwater rice. Planta, 223(2).
- Strawn MA, Marr SK, Inoue K, Inada N, Zubieta C, Wildermuth MC. *Arabidopsis* Isochorismate synthase functional in pathogen-induced salicylate biosynthesis exhibits properties consistent with a role in diverse stress responses. J Biol Chem. 2007;282:5919–33.
- Stringlis, I. A., Zhang, H., Pieterse, C. M., Bolton, M. D., & de Jonge, R. (2018). Microbial small molecules—weapons of plant subversion. Natural Product Reports, 35(5), 410-433.
- Strzelczyk E, Kampert M, Dahm H (1973) Production and decomposition of indoleacetic acid (IAA) by microorganisms isolated from the root zone of two crop plants. Acta Microbiol Pol B 5:71–79
- Suebrasri, T., Harada, H., Jogloy, S., Ekprasert, J., & Boonlue, S. (2020). Oksin-producing fungal endophytes promote growth of sunchoke. Rhizosphere, 16, 100271.
- Sun, J. (2011). Screening and identification of a nitrogen fixing bacteria with 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase activity. Plant Nutrition and Fertilizing Science.
- Syrova, D. S., Shaposhnikov, A. I., Yuzikhin, O. S., & Belimov, A. A. (2022). Destruction and transformation of phytohormones by microorganisms. Applied Biochemistry and Microbiology, 58(1), 1-18.
- Thabab, S., & Joshi, S. R. (2022). Plant growth promoting rhizobacteria from the perspectives of tea plantations and diseases. In New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering (pp. 315-332). Elsevier.
- Tharanath, A. C., Upendra, R. S., & Karthik, R. (2024). Soil Symphony: A Comprehensive Overview of Plant–Microbe Interactions in Agricultural Systems. Applied Microbiology, 4(4), 106.

- Theologis, A. (1989). Oksin-regulated gene expression in plants. In *Plant Biotechnology* (pp. 245-258).
- Timofeeva, A. M., Galyamova, M. R., & Sedykh, S. E. (2024). How do plant growth-promoting bacteria use plant hormones to regulate stress reactions?. *Plants*, 13(17), 2371.
- Tiwari, G., Duraivadivel, P., Sharma, S., & P, H. (2018). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase producing beneficial rhizobacteria ameliorate the biomass characters of *Panicum maximum* Jacq. by mitigating drought and salt stress. *Scientific reports*, 8(1), 17513.
- Totaro, A., Panciera, T., & Piccolo, S. (2018). YAP/TAZ upstream signals and downstream responses. *Nature cell biology*, 20(8), 888-899.
- Tsubokura S, Sakamoto Y, Ichihara K (1961) The bacterial decomposition of indoleacetic acid. *J Biochem* 49:38–42
- Tsugawa, H., Nakabayashi, R., Mori, T., Yamada, Y., Takahashi, M., Rai, A., Sugiyama, R., Yamamoto, H., Nakaya, T., Yamazaki, M., Kinoshita, T., Ikeda, C., Uchikata, T., Arita, M., & Saito, K. (2019). A cheminformatics approach to characterize metabolomes in stable-isotope-labeled organisms. *Nature Methods*, 16(4), 295–298.
- Uppalapati, S. R., Ishiga, Y., Wangdi, T., Urbanczyk-Wochniak, E., Ishiga, T., Mysore, K. S., & Bender, C. L. (2007). The phytotoxin coronatine contributes to pathogen fitness and is required for suppression of salicylic acid accumulation in tomato inoculated with *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 20(8), 955–965.
- Uroz S, Courty PE, Oger P (2019) Plant symbionts are engineers of the plant-associated microbiome. *Trends Plant Sci* 24: 905–916
- Vaishnav, D., & Chowdhury, P. (2023). Types and function of phytohormone and their role in stress. In *Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance Mechanisms*. IntechOpen.
- Vandenkoornhuyse, P., Quaiser, A., Duhamel, M., Le Van, A., & Dufresne, A. (2015). The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*, 206(4), 1196-1206.
- Vandeputte, O., Oden, S., Mol, A., Vereecke, D., Goethals, K., El Jaziri, M., & Prinsen, E. (2005). Biosynthesis of oksin by the gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infected plant tissues. *Applied and environmental microbiology*, 71(3), 1169-1177.
- Vanderstraeten, L., & Van Der Straeten, D. (2017). Accumulation and transport of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in plants: current status, considerations for future research and agronomic applications. *Frontiers in plant science*, 8, 38.

- Vega-Celedón, P., Canchignia Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosynthesis of indole-3-acetic acid and plant growth promoting by bacteria. *Cultivos Tropicales*, 37(1), 33-40.
- Vega-Celedón, P., Castillo-Novales, D., Bravo, G., Cárdenas, F., Romero-Silva, M. J., & Seeger, M. (2024). Synthesis and degradation of the phytohormone indole-3-acetic acid by the versatile bacterium *Paraburkholderia xenovorans* LB400 and its growth promotion of *Nicotiana tabacum* plant. *Plants*, 13(24), 3533
- Ververidis, P., & John, P. (1991). Complete recovery in vitro of ethylene-forming enzyme activity. *Phytochemistry*, 30(3), 725-727.
- Vlot AC, Dempsey DA, Klessig DF. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu Rev Phytopathol*. 2009;47:177–206.
- Vorholt, J. A. (2012). Microbial life in the phyllosphere. *Nature reviews microbiology*, 10(12), 828-840.
- Wagi, S., & Ahmed, A. (2017). Phyllospheric plant growth promoting bacteria. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, 5(00119).
- Wahidullah, S., Naik, D., & Devi, P. (2013). Fermentation products of solvent tolerant marine bacterium *Moraxella* spp. MB1 and its biotechnological applications in salicylic acid bioconversion. *PLOS ONE*, 8(12), e83647.
- Wahidullah, S., Naik, D., & Devi, P. (2013). Fermentation products of solvent tolerant marine bacterium *Moraxella* spp. MB1 and its biotechnological applications in salicylic acid bioconversion. *PLOS ONE*, 8(12), e83647.
- Wahidullah, S., Naik, D., & Devi, P. (2013). Fermentation products of solvent tolerant marine bacterium *Moraxella* spp. MB1 and its biotechnological applications in salicylic acid bioconversion. *PLOS ONE*, 8(12), e83647.
- Wang, E. T., & Martinez-Romero, E. (2000). *Sesbania herbacea*–*Rhizobium huaulense* nodulation in flooded soils and comparative characterization of *S. herbacea*-nodulating *Rhizobia* in different environments. *Microbial ecology*, 40(1), 25-32.
- Wang, N. Q., Kong, C. H., Wang, P., & Meiners, S. J. (2021). Root exudate signals in plant–plant interactions. *Plant, Cell & Environment*, 44(4), 1044-1058.
- Wang, Q., Dodd, I. C., Belimov, A. A., & Jiang, F. (2016). Rhizosphere bacteria containing 10.1007/s10886-013-0324-x.1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase growth and photosynthesis of pea plants under salt stress by limiting Na⁺ accumulation. *Functional Plant Biology*, 43(2), 161-172.
- Wang, S., Sun, G., Luo, Y., Qian, W., Fan, K., Ding, Z., & Hu, J. (2022). Role of iaa and primary metabolites in two rounds of adventitious root formation in softwood cuttings of *Camellia sinensis*(L.). *Agronomy*, 12(10), 2486.

- Wang, X., Zeng, X., Luo, L., Chen, X., Yan, H., Xie, Z., & Zhou, Y. (2022). Plant growth-promoting activity of *Herbaspirillum aquaticum* ZXN111 on the Zijuan tea plant (*Camellia sinensis* var. *assamica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3757-3764.
- Wang, Y. H., & Irving, H. R. (2011). Developing a model of plant hormone interactions. *Plant signaling & behavior*, 6(4), 494-500.
- Weidner S, Koller R, Latz E, Kowalchuk G, Bonkowski M, Scheu S, Jousset A (2015) Bacterial diversity amplifies nutrient-based plant-- soil feedbacks. *Funct Ecol* 29: 1341–1349
- Weissmann, G. (1991). Aspirin. *Scientific American*, 264(1), 84-91.
- Weyers, J. D., & Paterson, N. W. (2001). Plant hormones and the control of physiological processes. *New Phytologist*, 152(3), 375-407.
- Wildermuth MC, Dewdney J, Wu G, Ausubel FM. Isochorismate synthase is required to synthesize salicylic acid for plant defence. *Nature*. 2001;414:562–5.
- Wille, L., Messmer, M. M., Studer, B., & Hohmann, P. (2019). Insights to plant–microbe interactions provide opportunities to improve resistance breeding against root diseases in grain legumes. *Plant, cell & environment*, 42(1), 20-40.
- Wisniewski-Dyé F, Lozano L, Acosta-Cruz E, Borland S, Drogue B, Prigent-Combaret C, Rouy Z, Barbe V, Herrera AM, González V, Appl Microbiol Biotechnol (2020) 104:9535–9550 9549 Mavingui P (2012) Genome sequence of *Azospirillum brasilense* CBG497 and comparative analyses of *Azospirillum* core and accessory genomes provide insight into niche adaptation. *Genes* 3:576– 602
- Xue D., Yao H. Y., Huang C. Y. (2006). Microbial biomass, N mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in tea orchard soils. *Plant Soil* 288 319–331.10.1007/s11104-006-9123-2
- Xueliang, T., Dan, X., Tingting, S., Songyu, Z., Ying, L., & Diandong, W. (2020). Plant resistance and leaf chemical characteristic jointly shape phyllosphere bacterial community. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 36(8), 120.
- Yang, J., Kloepper, J. W., & Ryu, C. M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*, 14(1), 1-4.
- Yao, H., Sun, X., He, C., Maitra, P., Li, X. C., & Guo, L. D. (2019). Phyllosphere epiphytic and endophytic fungal community and network structures differ in a tropical mangrove ecosystem. *Microbiome*, 7, 57.

- Yu, Y. B., Adams, D. O., & Yang, S. F. (1979). 1-Aminocyclopropanecarboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis. *Archives of biochemistry and biophysics*, 198(1), 280-286.
- Yuan, Z., Ye, J., Lin, F., Wang, X., Yang, T., Bi, B., Mao, Z., Fang, S., Wang, X., Hao, Z., & Ali, A. (2023). Relationships between Phyllosphere Bacterial Communities and Leaf Functional Traits in a Temperate Forest. *Plants*, 12(22), 3854.
- Zamioudis, C., Hanson, J., & Pieterse, C. M. (2014). β -Glucosidase BGLU 42 is a MYB 72-dependent key regulator of rhizobacteria-induced systemic resistance and modulates iron deficiency responses in *A. rabidopsis* roots. *New Phytologist*, 204(2), 368-379.
- Zeilinger, S., Gupta, V. K., Dahms, T. E. S., Silva, R. N., Singh, H. B., Upadhyay, R. S., Gomes, E. V., Tsui, C. K. M., & Nayak, S. C. (2016). Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(2), 182–207.
- Zhang, K., Halitschke, R., Yin, C., Liu, C. J., & Gan, S. S. (2013). Salicylic acid 3-hydroxylase regulates *Arabidopsis* leaf longevity by mediating salicylic acid catabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(36), 14807-14812.
- Zhou, X. L., Hoang, N. H., Tao, F., Fu, T. T., Guo, S. J., Guo, C. M., Zhou, C. B., Thanh, T. L., & Buensanteai, K. (2024). Transcriptomics and phytohormone metabolomics provide comprehensive insights into the response mechanism of tea against blister blight disease. *Scientia Horticulturae*, 329, 112611
- Zhao Y (2010) Oksin biosynthesis and its role in plant development. *Annu Rev Plant Biol* 61:49–64
- Zúñiga A, Poupin MJ, Donoso R, Ledger T, Guiliani N, et al. Quorum sensing and indole-3-acetic acid degradation play a role in colonization and plant growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by Burkholderia phytofirmans PsJN. *Mol Plant Microbe Interact*. 2013;26:546–553. doi: 10.1094/MPMI-10-12-0241-R.
- Zúñiga A, Poupin MJ, Donoso R, Ledger T, Guiliani N, Gutiérrez RA, González B (2013) Quorum sensing and indole-3-acetic acid degradation play a role in colonization and plant growth promotion of *Arabidopsis thaliana* by Burkholderia phytofirmans PsJN. *Mol Plant-Microbe Interact* 26:546–553.