

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ENDOFİTİK BAKTERİLERİN HIYAR
BİTKİLERİNDE KOLONİZASYONUNUN VE BİTKİ
GELİŞİMİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Şahika AKAT

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Bitki Koruma Anabilim Dalı

Sunuş Tarihi: 01.09.2015

Bornova-İZMİR

2015

Şahika AKAT tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “**Endofitik Bakterilerin Hıyar Bitkilerinde Kolonizasyonunun ve Bitki Gelişimine Etkisinin Araştırılması**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’ nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 01/09/2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

.....

Raportör Üye : Prof. Dr. Ayşe GÜL

.....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ

.....

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Endofitik Bakterilerin Hıyar Bitkilerinde Kolonizasyonunun ve Bitki Gelişimine Etkisinin Araştırılması” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

01/09/2015

Şahika AKAT

ÖZET**ENDOFİTİK BAKTERİLERİN HIYAR BİTKİLERİNDE
KOLONİZASYONUNUN VE BİTKİ GELİŞİMİNE
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

AKAT, Şahika

Yüksek Lisans Tezi, Bitki Koruma Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

Eylül 2015, 91 sayfa

Bu çalışmada, yüzey dezenfeksiyonu yapılmış sağlıklı hıyar bitkilerinin içsel dokularından izole edilen ve daha önceden *in vitro* koşullarda bitki gelişimini artırma (PGPR) potansiyelleri belirlenmiş olan 6 endofitik bakteri EB izolatının; hıyar bitkilerinde bitki büyüme parametrelerine ve verime etkisi ile bitki içerisinde kolonizasyon potansiyelleri araştırılmıştır. EB izolatları, tohum bakterizasyonu ve fide kök içirme uygulaması biçiminde sisteme verilmiştir. Verim denemeleri, serada topraksız tarım koşullarında, ilkbahar ve sonbahar olmak üzere iki kez tekrarlanmıştır. Çalışmada biyokütle oluşumu (kök, gövde, yaprak ve meyve), verim (toplam ve pazarlanabilir) meyve kalitesine (çap, boy, sertlik, renk vb.) ilişkin çeşitli ölçüm ve analizler yapılmıştır. EB uygulamalarının, bitki gelişimi ve verimini negatif kontrole oranla %5-28 oranında artırdığı saptanmıştır. Hem biyokütle hem de verim değerleri açısından en başarılı uygulamanın 56 no.lu EB izolatı olduğu belirlenmiştir. EB'lerin bitki içinde 62 gün süreyle hıyar köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olduğu saptanmıştır. Bu tez çalışmasında kullanılan bakteri izolatlarının, 16s rRNA primerleri kullanılarak yapılan moleküler tanılama testleri ve sekans analizi sonucunda; 37 ve 56 no.lu EB izolatlarının *Pseudomonas punonensis*, 80 no.lu izolatın *Ochrobactrum pseudintermedium*, 83 no.lu izolatın *Pantoea agglomerans*, 99 no.lu izolatın *Bacillus thuringiensis* ve 112 no.lu izolatın ise *Pseudomonas fluorescens* olduğu belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Bitki gelişimini artıran endofitik bakteriler, kolonizasyon, verim, hıyar.

ABSTRACT**THE INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ENDOPHYTIC
BACTERIA ON PLANT GROWTH PROMOTION AND
COLONIZATION IN CUCUMBER PLANTS**

AKAT, Şahika

MSc in Plant Protection

Supervisor: Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN

September 2015, 91 pages

In this study, it was investigated for six endophytic bacteria (EB) strains, which were isolated from the internal tissues of surface disinfected cucumber plants and previously screened according to *in vitro* plant growth promoting tests, to effects on increasing the plant growth parameters and yield, and the colonization rate in cucumber plants. EB inoculation took place two times; before sowing as seed coating and after transplanting as substrate drenching. In the greenhouse conditions, yield experiments were repeated two times as spring and autumn under soilless cultivation system. In this study, some measurements and analyzes were carried out related with the biomass (fresh and dry weights of root and shoot), yield (total and marketable), and quality of fruits (diameter, length, stiffness, color and so on.). EB isolates increased the plant growth and yield at the rate of 5-28% compared to non treated the negative control. EB strain 56 was determined as the most successful treatment in terms of both biomass and yield. It was recorded that tested EB strains were successfully colonized on root and shoot tissues for a period of 62 days. In this thesis, tested EB strains were identified according to the results of molecular diagnostic test by using 16s rRNA primers and sequence analysis as *Pseudomonas punonensis* (strains 37 and 56), *Ochrobactrum pseudintermedium* (strain 80), *Pantoea agglomerans* (strain 83), *Bacillus thuringiensis* (strain.99), and *Pseudomonas fluorescens* (strain 112).

Keywords: Plant growth promoting endophytic bacteria, colonization, yield, cucumber.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında tecrübeleriyle bana sonsuz destek veren, görüş ve katkıları ile bana yol gösteren çok sevdiğim hocam Prof. Dr. Hatice ÖZAKTAN'a, çalışmam süresince bilimsel ve manevi olarak yakın ilgi ve destekleri için Prof. Dr. Ayşe GÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında yardımlarından dolayı laboratuvar arkadaşlarım Dr. Davar FAKHRAEİ, Arş. Gör. Mustafa AKBABA, Zir. Müh. Hande Evren ARDA ve Zir. Müh. Gizem ERYİĞİT'e, sera denemelerim boyunca yardımlarını ve desteğini esirgemeyen Zir. Yük. Müh. Özlem CENGİZ'e tüm yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Tez çalışmam sırasında burs desteği sağlayarak YL tez çalışmamı yapmama olanak sağlayan TÜBİTAK (TÜBİTAK COST 111O505 NO.LU PROJE)'a ve YL tez projeme finansal destek sağlayan Ege Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Müdürlüğüne içten teşekkür ederim.

Paylaşımları ve özverili destekleri ile her zaman yanımda olan arkadaşlarım Zir. Yük. Müh. Ahmet Kaan SELVİ ve Zir. Yük. Müh. Müge ERGÜN'e, çalışmamın başlangıcından bu güne kadar bu uzun süreçte verdikleri maddi ve manevi katkıları, sabırları ve destekleri nedeniyle başta sevgili babam olmak üzere, ablalarım Mazlume AKAT, Dr. Özlem AKAT, Dr. Hülya AKAT, Dr. Senem AKAT ve Turizm işletmecisi Rüveyda AKAT'a, şu anda hayatta olmayan ancak manevi desteklerini daima yanımda hissettiğim rahmetli annem ve anneanneme,

Teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
TEŞEKKÜR	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1 Bitki Gelişim ve Verimini Uyaran Yararlı Mikroorganizmalar	4
2.1.1 PGPR'lar ile ilgili yapılan çalışmalar	4
2.1.2 Endofitik bakterilerle ilgili yapılan çalışmalar	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	22
3.1 Materyal	22
3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi	22
3.1.2 Çalışmada kullanılan endofitik bakteriler	22
3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri	23

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.1.4 Çalışmada kullanılan yetiştirme ortamı	25
3.1.5 Çalışmada uygulanan besin çözeltisi	25
3.1.6. Moleküler çalışmada kullanılan primerler	26
3.2 Yöntem	26
3.2.1 EB'lerin <i>In vivo</i> koşullarda bitki gelişimini ve verimi arttırıcı etkisinin belirlenmesi	26
3.2.2 EB'lerin bitki içinde kolonizasyonunun izlenmesi	31
3.2.3 EB izolatların tanısı.....	33
3.2.4 Verilerin analizi.....	33
4. BULGULAR.....	34
4.1 Endofitik Bakterilerin Serada Bitki Gelişimini Arttırıcı Özelliklerine Yönelik Testlerin Sonuçları.....	34
4.1.1 Sonbahar döneminde elde edilen sonuçlar	34
4.1.2 İlkbahar döneminde elde edilen bulgular	41
4.1.3 Sonbahar ve ilkbahar döneminde yapılan denemelerin biyokütle ve verim sonuçlarının toplu olarak değerlendirilmesi	48
4.2 EB'lerin Bitki İçinde Kolonizasyonu.....	50

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
4.3 EB'lerin Tanısı.....	55
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	91

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 EB’lerin <i>in vitro</i> koşullarda sırasıyla siderofor, IAA, fosfatı parçalama aktiviteleri	23
3.2 Denemelerde kullanılan saksı ve yetiştirme ortamlarının görünümü	25
3.3 Seradan genel bir görünüm.....	27
3.4 Serada EB’lerin içirme uygulaması	28
3.5 Minolta CR-300 renk ölçere ait CIE L*a*b renk skalaları.....	30
3.6 EB’lerin bitki içerisinde kolonizasyonunu belirlemek için kullanılan yöntemin aşamalarından bir görünüm	32
4.1 EB’lerin hıyar bitkilerinin kök gelişimine etkisi	35
4.2 Hıyar meyve kalite analizi.....	40
4.3 Sonbahar ve ilkbahar dönemi toplam verim sonuçları	48
4.4 Sonbahar ve ilkbahar dönemi yeşil aksam yaş ağırlığı sonuçları	49
4.5 Sonbahar ve ilkbahar dönemi yeşil aksam kuru ağırlığı sonuçları.....	49
4.6 Sonbahar ve ilkbahar dönemi kök yaş ağırlığı sonuçları.....	50
4.7 Sonbahar ve ilkbahar dönemi kök kuru ağırlığı sonuçları.....	50
4.8 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin kök ve yeşil aksamında zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişim	53

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.9 Fd1/Rp2 primerleri ile testlenen EB izolatlarının PCR elektroforez-jel görüntüsü.....	55
4.10 27F/1492R primerleri ile testlenen EB izolatlarının PCR elektroforez-jel görüntüsü	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Çalışma sırasında kullanılan Endofitik Bakteri (EB) izolatlarına ilişkin bilgiler	23
3.2 Denemelerde kullanılan besiyerleri ve bileşimleri (1lt suya göre)	24
3.3 Denemeler boyunca hıyar bitkisine uygulanan besin çözeltisi reçetesi.....	25
3.4 EB’lerin moleküler tanısı için kullanılan 16 s rRNA primerlerin listesi ve Termal cykler çalışma koşulları	26
3.5 EB’lerin bitki içerisinde kolonizasyonunu takip etmek için uygun görülen örnek alınma zamanları	31
3.6 16s rRNA Bölgesi Fd1/Rp2 ve 27F/1492R primerleri için kullanılan master mix için gerekli kimyasallar ve miktarları.....	33
4.1 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin kök yaş ve kuru ağırlığına etkisi	35
4.2 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkisi.....	36
4.3 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi.....	36
4.4 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) toplam verime etkisi	37

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.5 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) toplam meyve sayısına etkisi	38
4.6 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) pazarlanabilir verime etkisi.....	38
4.7 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) pazarlanabilir meyve sayısına etkisi	39
4.8 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) ortalama meyve ağırlığına etkisi	39
4.9 Sonbahar döneminde EB uygulamalarının meyve kalitesine etkisi	41
4.10 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) döneminde hıyar bitkilerinin kök yaş ve kuru ağırlığına etkisi	42
4.11 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) hıyar bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkisi	42
4.12 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) hıyar bitkilerinin meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi	43
4.13 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) toplam verime etkisi.....	44
4.14 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) toplam meyve sayısına etkisi	44

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.15 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) pazarlanabilir verime etkisi	45
4.16 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) pazarlanabilir meyve sayısına etkisi.....	45
4.17 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) ortalama meyve ağırlığı üzerine etkisi	46
4.18 İlkbahar döneminde EB uygulamalarının meyvelerin çapı, boyu, toplam suda erir kuru madde içeriği ve sertliği, meyvelerin renk, EC ve pH değeri üzerine etkileri	47
4.19 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin yeşil aksamında zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişimi.	51
4.20 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin köklerinde zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişimi.....	52

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
ACC	Aminocyclopropane-1-carboxylic acid
ASM	Acibenzolar S-Methyl
BNF	Biyolojik Azot Fiksasyonu
CFU	Koloni oluşum birimi
CMC	Karboksi Metil Selüloz
EB	Endofitik Bakteri
FAO	Dünya Gıda ve Tarım Örgütü
HCN	Hidrojen Siyanid
IAA	Indol -3-Asetik Asit
IC	Indolik bileşikler
ISR	Uyarılmış sistemik dayanıklılık (Induced Systemic Resistance)
OD	Optik yoğunluk
PGPB	Bitki gelişimini destekleyen bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria)
PGPR	Bitki gelişimini destekleyen rhizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
SAR	Sistemik Uyarılmış Dayanıklılık (Systemic Acquired Resistance)
TSÇKM	Toplam Suda Çözünür Kuru Madde Miktarı
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

Cucurbitaceae familyasına ait olan hıyar (*Cucumis sativus* L.), dünyada ve ülkemizde yetiştiriciliği yoğun olarak yapılan en eski sebze türlerinden biridir. Anavatanı konusunda inceleme yapan birçok araştırmacı bu kültür bitkisinin Hindistan'ın Himalaya dağları ile Bengal körfezinin kuzey kısmı arasındaki sahadan ve Çin, İran ile Anadolu'yu içine alan bir bölgeden dünyaya yayıldığı konusunda fikir birliği içindedir. İlk kez Kolomb tarafından Haiti'de 1494 yılında yetiştirilerek dünyaya tanıtılmış ve birçok ülkede sıcak bölgelerde kültüre alınmıştır (Robinson,1999).

FAO'nun (2013) verilerine göre; hıyar, dünyadaki toplam üretimde 71,365,573 ton ile tarımsal üretimde önemli bir yer kaplar. Bu üretimin % 87.9'u Asya, % 7.5'i Avrupa ve kalan kısmı ise diğer kıtalardan elde edilmektedir.

Dünyada en çok hıyar üretilen ülkeler arasında ülkemiz Çin'den (54,362,750 ton) sonra ikinci sırada yer almaktadır. Ülkemizde 2014 yılı verilerine göre toplam 387,959 da alanda gerçekleştirilen, 1,845,749 tonluk hıyar üretiminin, 1,701,708 tonunu sofralık, 144,041 tonunu ise turşuluk hıyar üretimi oluşturmaktadır. Meyvesi yenen sebzeler içerisinde hıyar, ülkemizde 1,845,749 tonluk üretimi ile domatesten sonra ikinci sırayı almaktadır (FAO, 2013; TÜİK, 2014).

Tarımsal üretimin ana amacının, artan dünya nüfusu için verimli, güvenilir ve kaliteli ürünlerin üretimi olduğu vurgulanmıştır (Kucharski et al.,1996). Kullanılan çeşitli ticari kimyasallar, bitki verimini artırma ve bitki hastalıkları ile mücadeleleyi hedeflemektedir. Kimyasalların; çevre kirliliği yaratması, bu kimyasallara karşı mikroorganizmaların direnç kazanması, bitki, hayvan ve insan sağlığını olumsuz etkilemesi ayrıca pahalı olması gibi olumsuzluklar alternatif bir uygulama olarak yararlı mikroorganizmaların kullanımını ortaya koymuştur (Avis et al., 2008). Yararlı mikroorganizmalar, endofitler, epifitler, patojenler ve saprofitler rizosferdeki mikrobiyal komüniteyi oluşturmaktadırlar (Kloepper et al., 1989). Toprakta denge halinde bulunan bu mikroorganizma populasyonlarının değişmesiyle, yararlı mikroorganizma populasyonunun azalması, bitki

patojenlerinin toprakta baskın hale gelmesi sonucu bitki üretimi, dolayısıyla da bitki verimi olumsuz etkilenmektedir (Vessey, 2003). Bitki patojenlerine karşı mikrobiyal antagonistlerden yararlanma pestisitlere bir alternatif olarak önerilmiştir (Fernando et al., 2006).

Son zamanlarda biyolojik mücadelede, çoğunlukla bitkilerin yetiştirildiği ortamlarda bulunan ve birçok bitki türü ile ilişki içerisinde bulunan bitki gelişimini teşvik edici bakteriler (Plant Growth Promoting Bacteria –PGPB-) dikkat çekmektedir (Bashan and Holguin, 1998). Bu bakterilerin kullandıkları mekanizmalar, ekolojik nişlerinde bulunan diğer mikroorganizmalarla rekabet etmek, patojenlere karşı engelleyici allelokimyasallar üretmek, patojenler ve abiotik strese karşı bitkide sistemik dayanıklılığı (Induce Systemic Resistance-ISR-) uyarmak olarak belirtilmektedir (Mayak et al, 2004; Nowak and Shulaev, 2003).

Kök yüzeyini kolonize eden aynı zamanda rizosferde bulunan bitki gelişimini arttıran rhizobakterler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria– PGPR-) PGPB'lerin en çok çalışılan grubunu oluşturmaktadır (Kloepper et al., 1978, 1999). Bitki gelişimini uyaran kök bakterilerinin bu etkilerinin yanında hastalıklara özellikle de toprak kaynaklı patojenlere karşı biyolojik mücadelede etkili oldukları bilinmektedir (Kloepper, 1993; Lucas et al., 2000; Lemanceau et al., 2000; Parmar and Dudarwal, 2000). Fakat, birçok araştırmacı tarafından bitki gelişimini teşvik eden kök bakterilerinin yararlı etkileri olarak ortaya konmuş olan bitki gelişimini uyarma etkisi ile biyolojik kontrol etkilerini birbirinden net bir şekilde ayırmanın kolay olmadığı bildirilmiştir (Chen et al.,1996).

Bitki gelişimini teşvik eden bakteriler; tohum çimlenmesi, bitkinin sudan yararlanması, kök gelişimi ayrıca kendi yararlarına rizosferde mikrobiyal dengeyi değiştirmesi, mineral madde oranını düzenleyerek bitki gelişimini dolaylı olarak etkilemesi aynı zamanda bakteriyel, fungal ve nematod hastalıklarını büyük oranda baskılaması, viral hastalıklara karşı koruma sağlaması gibi önemli özellikler göstermektedir (Siddiqui, 2006). Rizosfer bakterileri, fungal ve bakteriyel patojenlere karşı geniş spektrumlu antagonistler olarak etkilidirler (Weller, 1988; Emmert and Handelsman, 1999; Kurze et al., 2001). Diğer

Çalışmalarda içsel kök dokularını kolonize eden bakterilerin de bitki gelişimini ve bitki sağlığını arttırabileceği gösterilmiştir (Sturz et al., 1997). Biyolojik savaş elemanı olarak bu bakteriler iyi birer mücadele ajanı olarak kabul edilmektedir (Tjamos et al., 2004).

Bu bakterilerin önemli bir bölümünün, endodermisi geçerek, kök korteksinden başlayarak vaskuler sistem boyunca taşınıp bitkinin yaprak, gövde, yumru ile diğer organlarında endofitik olarak yaşayabildiği belirlenmiştir (Bell et al., 1995; Compant et al., 2005; Gray and Smith, 2005; Hallman et al., 1997). Ayrıca bazı PGPR'ların kök içerisine girebileceği ve burada endofitik popülasyon oluşturabileceği de yapılan çalışmalarla belirtilmiştir (Kloepper et al., 1999).

Hallmann et al. (1998), endofitik bakterileri bitkilere herhangi bir zarar vermeyen, bitkilerin içsel dokularından ekstrakte edilen ya da yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularından izole edilen bakteriler olarak tanımlamıştır. Lilley et al. (1996), yaptıkları çalışmalarla bu bakterilerin birçok bitkinin iek, yaprak, meyve, gövde, kök ve tohumlarından izole edebilmişlerdir. Endofitik bakterilerin popülasyonlarını ise bitki genotipi, biyotik ve abiyotik evre koşullarının etkileyebileceği bildirilmiştir (Mahaffee and Kloepper, 1997a).

Ülkemizde, endofitik bakterilerin bitki gelişimini arttırıcı potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmayla; sağlıklı hıyar bitkilerinin yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularının içsel kısımlarından izole edilen ve *in vitro* koşullarda bitki gelişimini artırma (PGPR) potansiyelleri saptanan bakteriyel endofitlerin, hıyar bitkisinin gelişimine ve verimine etkisini saptamak ayrıca tohum bakterizasyonundan başlayarak EB'lerin bitki içerisinde kolonizasyonu ve popülasyon değişimlerini belirlemek ve söz konusu EB'lerin moleküler yöntemlerle tanısının gerçekleştirilmesi hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 Bitki Gelişim ve Verimini Uyaran Yararlı Mikroorganizmalar

2.1.1 PGPR'lar ile ilgili yapılan çalışmalar

PGPB'lerin en çok çalışılan grubu, toprakta yüzeye yakın yerlerde, rhizosferde ve kök yüzeyinde kolonize olabilen bitki gelişimini destekleyen rhizobakteriler (PGPR)'dir (Kloepper and Schroth, 1978; Kloepper et al., 1999). Bu mikroorganizmalar bitki gelişimini arttırırken bitki patojenlerini de kontrol altında tutabilmektedirler. Bitki hastalıklarının PGPR ile biyokontrolü, biyogübreleme ve bitki hormonlarının üretimi gibi konular ilgi alanını oluşturmaktadır. Bitki sağlığı, toprak yönetimi, bitki büyümesi ve gelişimini destekleyici mikroorganizmalar olarak bitki ile ilişkili bakterilerin kullanım olanaklarının açıklanması üzerine birçok literatür mevcuttur (Glick, 1995; Hallman et al., 1997; Rovira, 1965; Sturz et al., 2000; Welbaum et al., 2004).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; epifitik ve endofitik bakterilerin domateste öz nekrozu hastalığının kontrolünde etkileri araştırılmıştır. Çalışmada dört farklı cinse (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pantoea* ve *Agrobacterium* sp.) ait toplam 14 bitki gelişimini teşvik eden bakteri ve on farklı cinse (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bergeyella*, *Brevibacillus*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Salmonella* ve *Stenotrophomonas*) ait toplam 132 potansiyel biyoajan bakteri izolatu kullanılmıştır. Sıvı taşıyıcı materyal kullanılarak, kök uygulamaları için toplam dokuz bakteri formülasyonu (petri denemelerinde antagonistik ve/veya hiperparasitik etki gösteren 14 bakteri izolatından oluşan) ve yaprağa spreyci uygulamaları için toplam iki bakteri formülasyonu hazırlanmıştır. Sadece taşıyıcı materyal, ticari mikrobiyal gübre (BM-MegaFlu) ve bakteri uygulaması yapılmayan uygulamalar kontrol olarak kullanılmıştır. Kök daldırma ve yaprak spreyci şeklinde kullanılan bu bakteriyel formülasyonların birçoğunun hem hastalığı kontrol ettiği, hem de bitki gelişimi ve bitki klorofil miktarında artışlara sebep oldukları tespit edilmiştir. Sonuç olarak; bu formülasyon içerisinde bitki gelişim parametreleri ve hastalık kontrolü açısından en etkili bulunan B3+BA-A, B3+BA-B ve B4+BA-B uygulamalarının

domates yetiştiriciliğinde hem domates öz nekrozu hastalığının kontrolünde biyokontrol ajanı hem de bitki gelişiminde mikrobiyal gübre olarak kullanılabileceği öngörülmüştür (Aktaş ve Kotan, 2015).

Ülkemizdeki bir başka çalışmada ise topraksız tarım sisteminde hıyar, biber ve domates'in gelişimi üzerine PGPR'ların olası etkileri araştırılmıştır. PGPR olarak; 18/1K: *Pseudomonas putida*, 21/1K: *Enterobacter cloacae*, 62: *Serratia marcescens*, 70: *P. fluorescens*, 66/3: *Bacillus* sp., 180: *P. putida* altı doğal izolat ve *Bacillus amyloliquefaciens* FZB24, *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 iki ticari PGPR preparatı kullanılmıştır. İzolatların IAA üretimi ve fosfatı çözebilme yetenekleri değerlendirilmiştir. *P. putida*, *Serratia marcescens* ve *P. fluorescens* ile uygulanmış hıyar bitkileri negatif kontrole göre sırasıyla % 42, % 43 ve % 20 oranında toplam verimi arttırmıştır. Araştırmacılar tarafından bakterilerin kök kolonizasyonu, bitki gelişimi, bitki besin maddesi alımları ve verime olan etkilerine bakıldığında da *Bacillus* spp., *P. putida* ve *P. fluorescens*'in topraksız ortamda sebze yetiştiriciliğinde olumlu katkılar sağladığı belirlenmiştir (Gül vd., 2008).

Erwinia tracheiphila 'nın neden olduğu hıyar solgunluk hastalığı ile yoğun şekilde bulaşık olan bir tarladan alınan sağlıklı hıyar bitkilerinin yüzeyi sterilize edilmiş gövde dokularından izole edilen *Bacillus pumilus* strain INR7 ile yapılan tarla denemelerinde ise bu bakteri straininin kontrol bitkilerine göre uygulandığı bitkilerde bitki gelişimini arttırdığı gözlemlenmiştir (Wei et al., 1996).

Epifitik ve endofitik bakteriler bitki gelişimini düzenleyerek tohum çimlenmesi, kök gelişimi ile bitkinin sudan yararlanmasına çok önemli katkılar sağlarken bakteriyel, fungal ve nematod hastalıklarını geniş ölçüde baskılamakta, viral hastalıklara karşı da bitkiyi korumaktadır (Siddiqui, 2006). Akköprü ve Özaktan (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, kök bakterisi *Pseudomonas putida* strain AA11/1'in ve Acibenzolar S-Methyl (ASM) uygulamasının zamana bağlı olarak *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Psl) populasyonuna olan etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre ASM, duyarlı ve tolerant hıyar çeşidinde Psl populasyonunu ve hastalık şiddetini pozitif kontrole göre azaltmıştır. *P. putida* strain AA11/1 ise, duyarlı ve tolerant hıyar çeşidinde, Psl

populasyonunu etkilemeksizin, hastalık şiddetini pozitif kontrole göre engellemiştir. *P. putida* strain AA11/1 ve ASM uygulamaları, topraksız tarım sisteminde, duyarlı hıyar çeşidinde (2246 F1) hastalık şiddetini pozitif kontrole göre, sırasıyla % 33 ve 58, tolerant hıyar çeşidinde (Crispina F1) ise % 17 ve 56 oranında engellemiştir. Hastalık baskısının olmadığı koşulda, *P. putida* strain AA11/1 uygulamasının pazarlanabilir verimi duyarlı ve tolerant çeşitte negatif kontrole göre, sırasıyla % 33 ve 67 oranında arttıran en iyi uygulama olduğu, ASM uygulamasının ise, negatif kontrole göre verimde bir fark yaratmadığı bu çalışma ile tespit edilmiştir.

Özaktan ve Akat (2011), domates bitkilerinden izole edilen kök bakterilerinin domateste bakteriyel kanser ve solgunluk etmeni *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*)'i engelleme potansiyellerini *in vitro* ve *in vivo* koşullarda değerlendirmişlerdir. Çalışmada Ege bölgesinde sağlıklı bitkilerin köklerinden elde edilen toplam 49 adet epifitik ve endofitik antagonist aday bakteri izolatu kullanılmıştır. Testlenen bakteriyel antagonistlerin % 40'ı *in vitro* testlerde 2-37 mm arasında değişen engelleme zonları oluşturarak *Cmm*'i engellemiştir. *In vitro* test sonuçlarına göre en etkili antagonistlerin floresan Pseudomonaslar olduğu saptanmıştır. Deneme sonuçlarına göre, on bir bakteriyel antagonistin dördü domates tohumlarına uygulandığında kontrol'e göre bakteriyel solgunluğu % 54-86 oranında engellemiştir. Bu izolatlar, tohum bakterizasyonu uygulamasını takiben şaşırtma sırasında köklere uygulandığında hastalık çıkışını % 80-97 oranında engelleyerek tek başına tohum uygulamasından daha başarılı bulunmuştur.

2.1.2 Endofitik bakterilerle ilgili yapılan çalışmalar

2.1.2.1 Endofitik bakterilerin tanımı

Endofit terimi, konukçu bitkide yaşam döngüsünün tamamını veya bir kısmını hiçbir hastalık belirtisi göstermeksizin geçirebildikleri ve rhizosferde kolonize olan bazı bakterilerin bitkilerin içerisine girebildiği bildirilmiştir (Galippe, 1887). Bu çalışma di Vestea (1888) tarafından onaylandığı halde, Pasteur, Chamberland ve Fernbach gibi dönemin önemli araştırmacıları sağlıklı

bitkilerin mikroorganizmalardan arı olduğunu düşündüklerinden bu çalışmayı uzun süre kabul etmemişlerdir (Smith, 1911). O zamandan beri endofitler için birçok araştırmacı çeşitli tanımlar yapmıştır.

Endofitlerin tanımı ilk olarak; yüzeyi sterilize edilmiş olan bitki dokularından izole edilebilen mikroorganizmalar olarak kaydedilmiştir (Henning and Villforth, 1940). Endofit terimi bakteriyel veya fungal mikroorganizmalar tarafından bitkilerin iç kolonizasyonu anlamına gelmektedir. Çeşitli yollarla tanımlanan endofitlerin bu alanda araştırmalar ilerledikçe tanımları da değişmiştir. Hollis (1951), bu mikroorganizmaları hastalık belirtilerine neden olmadan bitkilerin içerisinde yaşayabilen canlılar olarak bildirmiştir. Kloepper et al. (1992), endofitleri; iç dokularda bulunan bakteriler olarak belirtmiştir. İlerleyen dönemlerde bu kavram, konukçu bitkilerde görsel zararı olmayan ve yüzeyi sterilize edilmiş bitki dokularından izole edilebilir olan bütün bakterileri kapsayacak şekilde genişletilerek tanımlanmıştır (Hallmann et al., 1997). James and Olivares (1997), bu tanımları uyarlamış ve bitkilerin iç dokularında kolonize olan aktif ve latent patojenleri de içeren tüm bakterileri endofit olarak kabul etmiştir. Bacon ve White (2000) ise endofitleri; herhangi bir anda canlı bitkilerin iç dokularını belirgin olumsuz etkilere sebep olmaksızın kolonize olan mikroorganizmalar olarak bildirmiştir.

Sturz (2000), endofitik bakterilerin geniş bir bitki çeşitliliğinden izole edildiğini belirtmiştir. Yapılan çalışmalarda 4 kültür bitkisi ve 27 çayır bitkisi toprak üstü aksamından 853 endofitik bakteri türünün izole edilebildiği bildirilmiştir (Zinniel et al., 2002). Endofitik bakterilerin bazılarının bitkiye yararlı etkide bulunduğu, diğer kısmının ise zararlı veya nötr etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Hollis, 1951; Tervet and Hollis, 1948). Nötr olanların, farklı konukçu genotiplerinde ve bazı koşullar altında patojenik özellik gösterebileceği belirtilmiştir (Misaghi and Donndelinger, 1990). Hıyar bitkisinden izole edilen *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Stenotrophomonas* vb. gibi bakteriyel genuslar endofitik bakteriler arasında antagonistik bakteriler kadar patojenlerin de yer aldığını göstermektedir. Ayrıca, *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinslerine ait bakteriler,

kültürü kolay olduğundan çalışmalar içerisinde sık rastlanan endofitik bakteriler olduğu görülmektedir (Mahaffee and Kloepper, 1997, 1997b; McInroy and Kloepper, 1995).

Endofitler, yaşam döngülerinin en azından bir kısmını bitkilerin içerisinde bulunarak geçirmektedir. Bu bakteriler yaşam stratejilerine göre başlıca 'obligat' veya 'fakültatif' olarak iki gruba ayrılır. Obligat endofitik bakteriler, gelişebilmeleri ve hayatta kalabilmeleri için kesinlikle konukçu bitkiye ihtiyaç duyan, bitki dışında yaşama dönemine sahip olmayan ve tüm yaşamları boyunca bitkiye bağımlı olan bakterilerdir. Fakültatif endofitik bakterilerin yaşam döngüleri ise bitkiler ve çevreleri (özellikle toprak) arasında değişen iki kısımdan oluşur. Bu endofitik bakteriler, konukçu bitkilerin dış kısmındaki yaşam döngülerini isteğe bağlı olarak bitki içerisinde veya diğer ortamlarda sürdürebilirler (Hardoim et al., 2008). Bu iki ana grubun yanında; zaman zaman bitki içerisine giriş yapan ve bitkinin iç ortamında korunma, beslenme ve çevresel rekabetten uzak bir şekilde yaşamak amacıyla faydalanan fırsatçı endofitik bakteriler de bulunmaktadır (Reinhold-Hurek and Hurek, 1998). Toprakta yaşayan geçici endofitik bakteriler ise, nematodların kökleri istila etmesinin ardından veya doğal yaraların kolonizasyonuna bağlı olarak tesadüfen endofitik olabilmektedirler. Bu tür bakteriler bitkinin içsel dokularında yaşamlarını sürdürmek zorunda değildir. Tesadüfen bitkiye giriş yapmış olan sık sık kök korteksi ile sınırlı bakteriler olarak da isimlendirilmiş endofitik bakterileri içermektedir. Bitki ortamına iyi uyum sağladıkları ve fırsatçı endofitlerin tüm özelliklerine sahip oldukları ileri sürülenler ise gerçek endofitik bakteriler olarak adlandırılmıştır. Bu bakteriler, vasküler dokular gibi bitkinin özel dokuları başta olmak üzere bitkinin tamamına yayılabilen, çok yüksek yoğunluklara ulaşsalar bile konukçu bitki ile uyumlu bir şekilde yaşamlarını sürdürebilen ve bitki metabolizmasına sürekli olarak etki edebilen endofitik bakteriler olarak kaydedilmiştir (Hardoim et al., 2011).

Bitkilerin içerisinde iyi adapte olmuş bakterilerin doğal olarak seçildiği gözlenmektedir. Endofitler bitkilerde aktif veya latent şekilde lokal ya da sistematik olarak hücreler arası olarak kolonize edebilirler. Araştırmalar bu bakterilerin bitki türleri içindeki çeşitli doku tiplerinde bulunduğunu

göstermektedir ve bu bakteriler birkaç cins ve tür içermektedir (Ryan et al., 2008). Endofitik bakteriler geniş bir bitki çeşitliliğinden izole edilmiştir (Sturz et al., 2000). Bitkilerin meyve, çiçek, yaprak, gövde, kök ve tohumlarından izole edilebilmektedirler (Lilley et al., 1996). Endofitik bakterilerin popülasyonlarını bitki genotipi dışında biyotik ve abiyotik çevre koşulları da etkilemektedir (Mahaffee and Kloepper, 1997).

2.1.2.2 Endofitik bakterilerin bitki gelişimi ve verimi artırıcı özellikleri

Bitki gelişimini destekleyen rhizobakteriler (PGPR) gibi endofitik bakteriler konukçuları üzerinde çeşitli mekanizmalarla yararlı etkiler oluşturmaktadır (Höflich et al., 1994; Kloepper et al., 1991). Bitkide büyüme ve gelişmeyi doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebilirler. Günümüzde, endofitik bakterileri içeren mikroorganizmaların bitki gelişimine etkileri; doğrudan büyüme ve gelişimin desteklenmesi (Frommel et al., 1991, 1993; Kloepper et al., 1980, 1991) ve dolaylı olarak kök bölgesindeki fitopatojenlerin biyokontrolü ile gelişimin uyarılması (Bakker and Schippers, 1987; DéFago et al., 1990) şeklinde meydana gelmektedir.

Endofitik bakteriler, Indole Asetik Asit gibi fitohormonları üreterek doğrudan ve bitkide fitohormon sentezini etkileyerek dolaylı olarak bitki gelişimini uyarabilir (Lazarovits and Nowak, 1997; Lee et al., 2004; Barbieri et al., 1986; Brown, 1974; Holland, 1997; Jacobson et al., 1994; Tien et al., 1979). Siderofor üretimi ve fosfatın çözünabilirliği aktivitesi gibi mekanizmalar ile minerallerin bitkiye alınımını kolaylaştırabilirler (Davison, 1988; Murty and Ladha, 1988; Costa and Loper, 1994; Verma et al., 2001; Wakelin et al., 2004). Ayrıca don zararı ve bitki patojenlerine karşı bitki duyarlılığını düzenleyerek ve bitkilerin ihtiyaç duyduğu temel vitaminleri sağlayarak bitki büyüme ve gelişimini teşvik edebilmektedirler (Gagné et al., 1989; Xu et al., 1998; Fredrickson and Elliot, 1985; Schippers et al., 1990; Pirttilä et al., 2004). Tüm bunların yanında antagonizm, rekabet veya bitkinin kendi savunma sistemlerinin devreye girmesini uyarak bitkilerin hastalıklara dayanıklılığını arttırarak bitki gelişimini dolaylı yoldan teşvik edebilmektedirler (Compant et al., 2010).

Ülkemizde yapılan bir çalışma kapsamında, sağlıklı hıyar bitkilerinden izole edilen endofitik bakteriler *in vitro* koşullarda testlenmiş, 104 izolattan yaklaşık %17'sinin IAA, %50'sinin siderofor üretimi ve %33'ünün ise fosfatı çözebilme yeteneğine sahip olduğu saptanmış ve bu sonuçlar doğrultusunda endofitik bakterilerin bitki büyümesini teşvik etme potansiyelinin yüksek olduğu belirtilmiştir (Fakhraei ve Özaktan, 2015).

Hindistan'da yürütülen bir çalışmada patates yumrularından izole edilen endofitik bakterilerin bitki gelişimini desteklediği, söz konusu endofitik bakterilerin % 21'inin bitki gelişimini desteklediği, bunun sürgün uzunluğunda % 63, sürgün yaş ağırlığında % 66, kök yaş ağırlığında % 55 oranında artış olarak ortaya çıktığı kaydedilmiştir (Sturz et al., 1998).

Bacillus subtilis ile domates ve biberde yapılan bir çalışmada bitki gelişimi, yaprak alanı, kök-gövde ağırlığı, meyve verim artışı sağlayarak bitkiye yararlı olduğu saptanmıştır (Kokalis-Burella et al., 2002). Benzer şekilde *B. subtilis* B2 izolatın gövde kuru ağırlığında % 12-94, kök yaş ağırlığında ise %13-100 oranında artış sağladığı yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Reddy and Rahe, 1989).

İspanya'da yürütülen bir çalışmada; kuraklık stresi altındaki mısır bitkisine *Bacillus thuringiensis* (BT) ve arbuscular mikorizal mantar (AM)'in etkinliği araştırılmıştır. Mısır bitkilerine BT, AM ve bu iki mikroorganizmanın kombinasyonu inoküle edildikten sonra iyi sulama koşulları ve kurak koşullar altında yetiştirilerek yürütülen çalışmada; fotosentez verimi, besin değeri, bitki gelişimi, kök verimi gibi çeşitli parametreler ölçülmüş ve BT ile inoküle edilen bitkilerin önemli ölçüde besin birikiminin arttığı görülmüştür. Ayrıca kombinasyon şeklinde yapılan uygulamanın da kuraklıktan kaynaklı hasarları düşürdüğü bildirilmiştir (Armada et al., 2015).

Ülkemizde meyve ağaçlarında yapılan bir çalışmada ise; *Bacillus mycoides* T8 ve *Bacillus subtilis* OSU-142 bakteri ırklarının verim, meyve özellikleri ve bitki gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada T8 ve OSU-142 bakteri ırkları tek başlarına ve kombinasyon halinde bitki gelişimini teşvik etmiş ve

önemli verim artışı sağlamıştır. Her iki yılda da yaprak ve çiçekten uygulanan bakterilerin vişnede ağaç başına verim, meyve sap uzunluğu ve sürgün uzunluğunu kontrole göre arttırdığı gözlemlenmiştir. 2010 yılında en yüksek sürgün uzunluğu T8 (45.75 cm) uygulamasından elde edilirken, 2011 yılında ise T8+OSU-142 (59.28 cm) uygulamasından elde edilmiştir. T8, OSU-142 ve T8+OSU-142 bakterilerinin yaprak ve çiçek uygulamaları ağaç başına verimi önemli derecede arttırdığı tespit edilmiştir (Arıkan ve Pırlak, 2012).

Hıyar bitkisinde yapılan bir çalışmada *Pantoe agglomerans*'ın bitki ağırlığı, meyve verimi ve meyve sayısında sırasıyla % 29, % 14, % 50 oranında artış sağladığı kaydedilmiştir (Uthede et al., 1999). Ayrıca *Pseudomonas fluorescens* domateste % 5.6-9.4 oranında verim artışı sağlamıştır (Gagne et al., 1993). *Pseudomonas* spp. ile kanola bitkisinde % 11-52 kök kuru ağırlık artışı saptanırken (Bertrand et al., 2001), şeker pancarında % 6.1-13 kök, % 7.8 şeker verim artışı sağlanmıştır (Çakmakçı vd., 2001). *P. fluorescens* ve *B. pumilis* yaban yasemini bitkisinde yaprak alanı ve gövde çapı artışı sağlayarak bitki gelişimine fayda sağlamıştır (De Silva et al., 2000).

Bitki gelişimini destekleyen endofitik bakterilerin en önemli yönü, azot fiksasyonudur. Son çalışmalar, biyolojik olarak fikse ettikleri nitrojeni (Biyolojik Azot Fiksasyonu-BNF-) doğrudan konukçularının kullanımı için uygun forma dönüştüren endofitik diazotrofların olduğunu belirtmektedir. Bu durum endofitik bakterilerin, kök yüzeyindeki rhizosfer mikroorganizmaları ile rekabetlerinin azalmasında, metabolik substratlara kolay erişimlerinde, uygun ortam koşulları sağlanmasında ve çok yüksek oksijen konsantrasyonlarından korunmada avantajlar sağlayabilmektedir (Quispel, 1991). Nitrojeni fikse edebilen çeşitli endofitik bakterilerin, mısır, çim, çeltik bitkilerinin köklerinin içerisinde kolonize olduğu araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Barraquio et al., 1997; Cocking et al., 1990; Diem et al., 1978; Hurek et al., 1991; Patriquin and Döbereiner, 1978). Yapılan çalışmalar sonucunda Şeker kamışı (Boddey et al., 1995), çeltik (Ladha and Reddy, 1995; Yanni et al., 1997), ve buğdayın (Webster et al., 1997) azot ihtiyacının bu endofitik bakteriler tarafından karşılandığı ortaya çıkmıştır. Ayrıca *Burkholderia* spp., *Azoarcus* sp. BH72, *Herbaspirillum seropedicae*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* ve *Azospirillum brasilense* gibi diazotrofik

bakterilerin, kontrollü koşullar altında azot fiksasyonuna bağlı olarak konukçu biyomasını önemli derece arttırdığı kaydedilmiştir (Bhattacharjee et al., 2008).

Cezayir’de yürütülen bir çalışmada azot fiske eden bakteriler buğdaydan izole edilmiş, tuz stresi ve kurak koşullar altında bitkilerin verimliliği ve bitki gelişimine etkisi araştırılmıştır. İzolatların tanısı API20E ve 16s rRNA sekans analizi ile tespit edilmiştir. Sonuca göre *Pantoea agglomerans* olarak tanısı yapılan bakterinin IAA, siderofor ve fosfatı çözme aktiviteleri değerlendirilip kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında siderofor için 300mM, IAA için 100mM ve fosfatı çözme aktivitesi için 1061,49 microg mL(-1) olarak maximum değerler tespit edilmiştir. Ayrıca *P. agglomerans* tuz konsantrasyonu 100 ile 300 mM arasındayken 41°C’ye kadar tolerans gösterebilmiştir. Çalışma sonucuna göre; *P. agglomerans*’ın kurak ve tuzlu koşullarda iyi bir bitki gelişim aktivitesi gösterdiği sonucuna varılmıştır (Silini-Chérif et al., 2012).

Pantoea agglomerans ile yapılan bir farklı çalışmada; yer fıstığından izole edilen PAJ ve BS2a suşları Bali’de yerel pirinç çeşidi olan Cicih Medango Seleem’de bitkinin büyüme ve gelişmesi ile verime olan etkisine bakılmıştır. İzolatlar tohumlara uygulandıktan sonra bazı büyüme ve verim parametreleri, biyokütle ağırlıkları, kök ve yaprak alanı gözlemlenerek kontrol bitkileriyle karşılaştırılmış ve sonuçlar önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (Khalmi et al., 2012).

Kuklinsky-Sobral et al. (2004), soya fasulyesi kültürlerinin, bazı bitki gelişme dönemlerinden izole edilen epifitik ve endofitik izolatları analiz etmiştir. Bitkinin başlangıç gelişme dönemlerinden (genç bitkilerden) izole edilen çoğunlukla *Pseudomonaceae*, *Burkholderiaceae* ve *Enterobacteriaceae* genuslarını içeren, endobakteriyel izolatların % 60’ının fosfatı çözebildiği, yaşlı bitkilerden izole edilen bakterilerin ise % 50’den daha azının fosfatı çözebilme yeteneğine sahip olduğu yapılan karşılaştırma ile anlaşılmıştır.

Endofitik bakteriler demiri bağlama yeteneğindedir, dolayısıyla ortamda bulunan patojenlerin demirden faydalanmasını sınırlayarak, bu patojenik

bakteriler üzerinde antagonistik aktiviteyle bitkiye yarar sağlamaktadır (Hardoim, 2011).

IAA üretimi, endofitik bakteriler arasında yaygın olan bir diğer özelliktir. Bu özellik kök hacmi ve biyomasının artışı, lateral köklerin çıkmasında görülen artış gibi bitki kök gelişiminin desteklenmesini sağlamaktadır (Dias et al., 2009; Kuklinsky-Sobral et al., 2004; Taghavi et al., 2009; Tsavkelova et al., 2007). Börülce bitkisinde endofitik bakterilerin uygulandığı bitkilerde; kök oluşumunun önemli ölçüde teşvik edildiği, gelişen köklerin sayısında ve uzunluğunda kontrollere göre artış gözlemlendiğini bildirmiştir. Bu durum, kök gelişiminde endobakteriyel oksinlerin önemli derecede rol sahibi olduğunu göstermektedir (Tsavkelova et al., 2007).

ACC (aminocyclopropane-1-carboxylic acid) ve etilenin sentezi; patojen saldırısı, yaralanma, kuraklık, sel baskını gibi biyotik ve abiyotik faktörler tarafından uyarılır. Stres altında yoğun şekilde üretilen etilen, bitkide kök gelişimini ve uzamasını engellemektedir, ayrıca etilen, oksinlerin sinyalizasyonu ve taşınımı üzerine doğrudan etki gösterebilmektedir (Strader et al., 2010). Glick et al. (1998), bitki gelişimini destekleyen bakterilerin çoğunun 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminaz enzimine sahip olduklarını bildirmiştir. Bitki gelişimi içerisinde, etilen seviyelerinin düzenlenmesinde ACC-deaminazın görev aldığı belirtilmiştir (Glick et al., 1994; Glick et al., 1997; Glick et al., 1998; Hall et al., 1996). Bitki ile ilişkili bazı bakteriler, kodladıkları ACC-deaminaz enzimini kullanarak etilenin öncülü olan ACC'yi parçalayarak, karbon ve azot kaynağı olarak ortaya çıkan son ürünlerden besin olarak faydalanabilir. Dolayısıyla, bitki dokularının içerisinde bu bakteriler kolonize olur. Kök uzunluğunda ve bitki biyomasında artış gibi bitki gelişiminin desteklenmesinin, *Bacillus* spp., *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Burkholderia phytofirmans*, *Methylobacterium fujisawaense* gibi endofitik bakteri türleri tarafından ACC-deaminaz üretimine bağlı olduğu bildirilmiştir (Nadeem et al., 2010).

2.1.2.3 Endofitik bakterilerin biyokontrol özellikleri

Bakteriyel biyokontrol ajanlarının çoğunluğu, rhizobakteriler arasından seçilmiştir (Beauchamp, 1993; Kloepper, 1992; Weller, 1988). Endofitik bakteriler ve konukçuları arasındaki yakın ilişki, biyokontrol ajanları olarak seçilmelerinde onları doğal adaylar yapmaktadır (Chen et al., 1995; Van Buren et al., 1993).

Endofitik bakteriler, bitkide iletim demetleri (Hallmann et al., 1997) ve intersellüler alanlarda aktif olarak kolonize olabilir ve sistemik şekilde yayılabilirler (Quadt-Hallmann et al., 1997a). Bu kolonizasyonun gerçekleştiği ekolojik niş, fitopatojenlerin bulunduğu ekolojik niş ile benzerlik gösterir, dolayısıyla bu durum endofitik bakterilerin, patojenlere karşı iyi bir biyokontrol ajanı olarak davranabilmelerini sağlayabilmektedir (Hallmann et al., 1997). Bu bakteriler bitki hastalıklarının baskılanmasında; antibiosis (Sturz et al., 1998), yer ve besin rekabeti (Puentea et al., 2009) mekanizmalarını kullanarak patojene karşı doğrudan etki gösterirken, bitkide dayanıklılık sistemlerini de uyarak patojenlere karşı dolaylı etki göstermektedirler (M'Piga et al., 1997).

Hindistan'da yapılan bir çalışmada; çay bitkisi rhizosferinden izole edilen *Ochrobactrum anthropi* TRS-2, *Phellinus noxius*'un neden olduğu kahverengi kök çürüklüğü hastalığını engellemek için uygulanmıştır. İzole edilen *Ochrobactrum anthropi* TRS-2 *in vitro*'da bitki gelişimi için fosfatı çözme, siderofor üretme ve IAA aktivitesi testleri uygulanarak patojenlere karşı antifungal etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre; *Ochrobactrum anthropi* TRS-2 bitki gelişimini arttırırken aynı zamanda hastalığı da büyük ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır (Chakraborty et al., 2009).

Ülkemizde yürütülmüş bir çalışmada; sağlıklı hıyar bitkilerinden izole edilen endofitik bakterilerin hıyarda *Fusarium solgunluk* etmeni olan *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum* (FOC)'u engelleme ve bitki gelişimini arttırma potansiyelleri araştırılmıştır. EB uygulaması gören bitkilerin %32-62 oranında hıyar bitkilerinde FOC'un gelişimini engellediği ayrıca bu izolatlar arasında bulunan *Pantoea agglomerans* ve *Bacillus thuringiensis* 'in %52 ve %49 oranında

hastalığı azaltmasıyla birlikte kontrol bitkilerine göre verimde %30 artış sağladığı bildirilmiştir (Fakhraei ve Özaktan, 2015).

Endofitik bakteriler tarafından Hidrojen siyanid (HCN) ve antibiyotikler gibi antimikrobiyal maddelerin üretimi, fitopatojenler ile biyolojik mücadelede bu bakterilerin kullandığı önemli mekanizmalardandır (Blumer and Haas, 2000). Ayrıca uçucu bileşikler karışım halinde üreterek diğer bazı bakteri ve fungusları etkili bir şekilde engelleyebilmekte veya yok edebilmektedirler (Strobel et al., 2001). *Bacillus subtilis*'in ürettiği iturin A ve *Serratia plymuthica*'nın ürettiği pyrrolnitrin endofitik bakteriler tarafından salınan bazı antifungal maddelerdir (Cho et al., 2002).

Endofitik bakteriler, uygulandıkları noktalardan aşağı ve yukarı doğru taşınabilir veya vasküler silindir içerisine herhangi bir patojenin girişini engelleyebilir. Pamuk bitkilerine gövde enjeksiyonu yolu ile endofitik bakterilerin uygulanması, *Rhizoctonia solani* etmeninin sebep olduğu kök çürüklüğü ve *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* etmeninin sebep olduğu vasküler solgunluk hastalığının oluşumunu azaltmıştır (Chen et al., 1995).

Bakteriyel patojenlere karşı endofitik bakterilerin antagonistik aktivitesini gösteren çalışmada patates gövde dokularından izole ettiği 192 endofitik bakteri straininin 61'inin, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*'a karşı etkili biyokontrol sağladığını belirlemiştir. Bu bakteriler arasında, bir floresan *Pseudomonas* (CICA90) izolatu, kök ve gövdenin içindeki ve dışındaki dokuların her ikisinde de kolonize olmuştur. Yapılan bir çalışmada antagonistik *Bacillus* MSU-127 izolatu inokulasyonu şeker pancarında önemli zarar yapan *Rhizoctonia solani* fungusunun neden olduğu kök çürüklüğü hastalığını önemli oranda azaltmıştır (Van Buren et al., 1993).

Pakistan'da yürütülen bir çalışmada şeker pancarında hastalığa sebep olan *Colletotrichum falcatum*'a karşı *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5, *Pseudomonas* sp. NH-203, *Pseudomonas* sp. NH-276 ve *Stenotrophomonas maltophilia* NH-300 strainleri sera koşullarında patojeni engellemek için denenmiş ve bu bakterilerin tümünün HCN ürettiği ayrıca *Ochrobactrum*

intermedium strain NH-5 ve *Pseudomonas* sp. NH-203'ün siderofor ile geniş spektrumlu bir antibiyotik ürettiği gözlemlenmiştir. *Pseudomonas* sp. NH-276 ise proteaz üretmiştir. Çalışmanın sonucuna göre *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5 ve *Stenotrophomonas maltophilia* NH-300'ın iyi birer biyolojik ajan özelliği göstererek hastalığı % 44-52 oranında azalttığı bildirilmiştir (Hassan et al., 2014).

Biyolojik kontrolde bakteriyel metabolitlerin, uyarılmış sistemik dayanıklılık (ISR) olarak adlandırılan bir süreçle uyarak bitkilerin patojenlere karşı dayanıklılığını artırarak, bitkileri etkilemesinde önemli rol oynamaktadır. Bazı kimyasal uygulamaları veya nekroz oluşturan patojenler yoluyla bitkilerde dayanıklılığın oluşması, sistemik kazanılmış dayanıklılık (SAR) olarak adlandırılır. Pieterse et al. (1998), ISR ve SAR'a bitkide sebep olan elisitörlerin ve sinyal taşıma yollarının birbirinden farklı olduğunu ileri sürmüştür. ISR'nin sinyal taşıma yolu salisilik asitten bağımsız, etilen ve jasmonik asite bağımlıdır. SAR ise, sinyal molekülü olarak bilinen salisik asit'e bağımlıdır. Yapılan son çalışmalar, endofitik bakterileri de içeren bazı rhizobakterilerin, etilen ve jamonik asit'den bağımsız, salisilik asit'e bağımlı olan sistemik korunmanın oluşumunu tetiklediğini göstermiştir. ISR oluşmasını sağlayan kök bakterileri rhizosferde zaten var olan yoğun bakteri mikroflorasında bulunabilmektedirler. Fakat bitkide ISR'yi uyaran kök bakterileri arasında spesifik bir tanıma şarttır (Pieterse at al., 1998).

ISR-uyarıcı *P. fluorescens* WCS417r ile işlem gören *Arabidopsis thaliana* bitkisinde ISR-uyarıcı genler microarray analizleri ile belirlenmiştir. Araştırmacılar, kök içerisinde aktive edilmiş 97 gen ile karşılaşırken, gövdede farklı bir gen regulasyonu ile karşılaşmamışlardır. Ancak, araştırmacılar bitki patojeni, *P. syringae* pv. *tomato* ile bitkinin inokule edilmesinin ardından, *P. fluorescens* WCS417r ile ön işlem görmüş bitkilerin gövdelerinde aktive olan 81 gen bulmuşlardır. Dolayısıyla bitkilerin, ISR yoluyla patojen saldırısına karşı dayanıklılıklarının tetiklendiği yapılan bu çalışma ile gösterilmiştir (Verhagen et al., 2004).

Jetiyanon and Kloepper (2002), Tayland da, bazı kültür bitkilerinde ISR'yi tetikleyen, endofitik *Bacillus* spp. ile yaptıkları sera denemeleriyle, tropikal tarımda endofitik bakteriler ile ISR'nin tetiklenmesi sürecini araştırmışlardır. Çalışmalarında, domates ve *Ralstonia solanacearum*; biber (*Capsicum annuum* var. *acuminatum*) ve *Colletotrichum gloeosporioides*; lahana (*Brassica chinensis* var. *parachinensis*) ve *Rhizoctonia solani*; hıyar ve *Cucumber mozaic virüs* (CMV) içeren 4 farklı konukçu-patojen sistemini kullanmışlardır. Çalışmanın hedefi, dört konukçu-patojen sisteminin tümünde, ISR'yi tetikleyen endofitik spor oluşturan bakterilerin karışımını bulmaktır. Bu amaçla 7 bireysel strain ve 2 strainin 11 farklı kombinasyonu test edilmiştir. *B. amyloliquefaciens* IN937a straini ve 4 strainin karışımı (IN937a+B. *subtilis*IN937b; IN937b + *B. pumilus* SE34; IN937b + *B. pumilus* SE49; ve IN937b + *B. pumilus* INR7) bu dört hastalığın tümünün oranını ve şiddetini önemli ölçüde azaltmıştır.

2.1.2.4 Endofitik bakterilerin kolonizasyonu

Endofitik bakterilerin bitki içindeki kolonizasyonunun genellikle rizosferde başladığı daha sonra rhizoplane tutunduğu bildirilmiştir. Endofitik bakterilerin rhizoplaneden kök korteksine kadar konukçularında gelişmeleri süresince, yer değiştirme süreçlerinin aktif ve pasif mekanizmalar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (Lugtenberg et al., 2001).

Bakteriler kök korteks bölgesine ulaştığında, sadece bazı bakteriler endodermisi geçebilirken, diğer bakteriler için daha ileri kolonizasyon endodermis gibi bir bariyer aracılığıyla engellenmektedir (Gregory, 2006). Endodermisi geçebilen endofitik bakteriler, endoriza içerisinde kolonizasyonlarını sürdürebilmek için hücre duvarını degrade eden enzimler salgılayabilir. Hücre çeperini bozan bakteriyel enzimlerin, hücre duvarlarıyla savunma ve onarımda işbirliği yapan birçok protein gibi bitki savunma yollarının ortaya çıkmasıyla ilgili olduğu belirtilmiştir (Iniguez et al., 2005).

Doğal koşullar altında zararlı bakteriler, endodermisin bozulmasına neden olarak endofitik bakterilerin, merkezi silindire geçmesine izin verir. Endodermis

bariyerini geçtikten sonra, endofitik bakteriler konukçularının kök ksilem kanallarına ulaşmak için pericycle'a giriş yapmak zorundadır (James et al., 2002).

Bazı endofitler, kök internal dokularında kolonize olabilir ve kök ksilem kanallarına kadar gelişmelerini sürdürebilirler ancak endofitlerin aktif penetrasyonu konukçu bitkilerin savunma mekanizmalarını uyarmaları ile ilişkilendirilmiştir (Rosenblueth and Martínez-Romero, 2006).

Lamb et al. (1996), rhizobakter *Pseudomonas aureofaciens* Ps3732RNL11(L11) ile tohum yüzeyinin bakterizasyonunun ardından, monokotiledon ve dikotiledon 16 bitkinin toprak üstü dokuları içerisinde, bu bakterinin kolonize olabildiği bildirilmiştir. Bitkinin toprak üstü dokularının kolonizasyonu, kök inokulasyonunun ardından yüzeyine bulaştırılma yapılmamış sürgünlerde de gözlemlenmiştir. Bu durum köklerden sürgünlere doğru vasküler olarak endofitik bakterilerin taşındığını göstermektedir.

Pakistan’da yürütülen bir çalışmada; buğday ve ayçiçeği bitki köklerinde *Ochrobactrum intermedium*, *Bacillus cereus* ve *Brevibacterium* sp. türlerinin kolonizasyon potansiyelleri araştırılmıştır. Buğday bitkisi köklerinde *Ochrobactrum intermedium* ve *Bacillus cereus* ile *Brevibacterium* sp. karşılaştırılmış, *Ochrobactrum intermedium* rhizoplanede kolonize olurken *Bacillus cereus* hem rhizoplane hem de kök bölgesi yakınlarında kolonize olduğu gözlemlenmiştir. *Brevibacterium* sp. ise ayçiçeği bitkisi köklerinin rhizosferinde grup halinde kolonize olmuştur. Sonuç olarak; her iki bitkide de *Ochrobactrum intermedium* en iyi kolonize olan bakteri olarak tespit edilmiştir (Faisal and Hasnain, 2000).

Ülkemizde yürütülen bir çalışma kapsamında; *Pantoea agglomerans* ve *Bacillus thuringiensis* ‘in bitki içinde zamana bağlı olarak kolonizasyonu periyodik olarak değerlendirilmiştir. FOC’un *Pantoea agglomerans* üzerine olumsuz etkisi saptanmamış olup *Bacillus thuringiensis* popülasyonunun FOC’un varlığından olumsuz etkilendiği ayrıca FOC’un bitki içindeki kolonizasyonu EB uygulamalarından etkilendiği sonuçlarına varılmış ve bu veriler doğrultusunda

EB'lerin konukçu bitkide sistemik dayanıklılığı uyarma potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Fakhraei ve Özaktan, 2015).

Ülkemizde yürütülmüş bir başka çalışmada; sağlıklı hıyar bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen endofitik bakteri izolatlarının hıyar köşeli yaprak leke hastalığına (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, *Psl*) karşı biyokontrol etkisi ve bitki içerisinde kolonizasyonu araştırılmıştır. İzolatların hıyar tohumlarında $3 - 7,5 \times 10^6$ cfu/g tohum oranında kolonize olduğu saptanmış ve EB'lerin kök ile yeşil aksamdaki kolonizasyonunun patojen bakteri inokulasyonundan sonra azalmadığı bildirilmiştir. Hıyar bitkisinin içsel dokularında başarıyla kolonize olan bu bakterilerin, pozitif kontrol ile karşılaştırıldığında, patojen bakterinin populasyon yoğunluğunu on kat azalttığı ayrıca Indol-3-Asetik Asit (IAA), siderofor üretimi, fosfatı parçalama yeteneği, vigorite indeksine etkisi ve antibiyosiz özellikleri gibi *in vitro* parametreler açısından değerlendirilen ve hıyar bitkilerinde *Psl*'nin gelişimini % 50'den daha yüksek oranda engellediği bildirilmiştir (Akbaba ve Özaktan, 2014).

Bitki gelişimini destekleyen bakterilerin amino asitler, vitamin B1 ve NADH dehidrojenaz I'i (Camacho Carvajal et al., 2002; Simons et al., 1997), lipopolisakkaritleri (LPS) (Dekkers et al., 1998) sentezleme yeteneklerinin, kökleri kolonize etmeleriyle yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca dış membran proteinleri gibi, hücre yüzey proteinleri agglutinin, IV pili tip gibi yapıların kolonizasyon süreci ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. (de Mot et al., 1992; Anderson et al., 1988; Dörr et al., 1998). *Azoarcus* sp. BH72 için, çeltikte bir endofitik diazotrofu pil AB tarafından kodlanan IV pili tipi, kök yüzeylerine tutturulmak için gereklidir (Dörr et., 1998).

Kök ile ilişkili bakterilerin besin kaynağı olarak kullandığı, çeşitli karbonhidratlar, amino asitler, organik asitler bunların yanı sıra diğer bileşikler bitkiler tarafından rizosfere salınır (Walker et al., 2003). Mikroorganizmalar, bu eksudatlara doğru taşınır. Bu durum hem rhizosfer hem de rhizoplanede mikroorganizmaların çoğalmasını ve kolonize olmasını kolaylaştırır (Lugtenberg and Kamilova, 2009).

Kök eksudatlarının yapısındaki farklılıkların, kolonizasyon sürecini etkileyebileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Lugtenberg et al., 2001). de Weert et al. (2002), kemotaksis'den sorumlu *cheA* geninden yoksun olan, bitki gelişimini teşvik eden *Pseudomonas fluorescens*'in mutant strainini kullanarak yaptığı çalışmada, bu bakterinin domates bitkisi rhizosferi içerisinde kök eksudatlarına doğru hareketinin ve kök kolonizasyonunun azaldığı sonucunu ortaya koymuştur.

Quorum-sensing'in rhizosfer ve rhizoplanenin kolonizasyonu ile ilişkili olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Soto et al., 2006). Bunun aksine, bazı çalışmalar Gram negatif bakteriler içerisinde, Quorum-sensing'i yöneten N-acyl homoserine lacton (AHL)'ların bitki kolonizasyonu sırasında bakteriler için sürekli gerekli olmadığını göstermiştir. Ancak Quorum-sensing'in, doğal koşullar altında rhizosfer içerisinde bakterilerin kolonizasyonunu etkileyen bakteriyel strainlerin rekabet yetenekleri üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Müller et al., 2009; Schuëgger et al., 2006).

In vivo koşullar altında endofitik bakterilerin kolonizasyonunu, sıcaklık, nem, inokulum yoğunluğu, konukçu genotipi gibi faktörlerin etkilediği bildirilmiştir (Pillay and Nowak, 1997). Örnekleme zamanı ve konukçunun gelişme aşamasında, gelişme sezonu boyunca oluşan dalgalanmalara bağlı olarak da popülasyon yoğunluğunun değişebileceği bildirilmiştir (McInroy and Kloepper, 1994, 1995a). Şeker kamışında düşük azotla gübrelenen bitkilerin aksine *Gluconacetobacter diazotrophicus* tarafından yüksek azot gübreleme rejimi altındaki bitkilerin kolonizasyonunda bir azalma gözlenmiştir (Hallmann et al., 1997).

Endofitik bakterilerin yayılış mekanizmalarındaki farklılık, her dokuda bulunan intersellüler alanlara bağlı olup aynı zamanda her mikroorganizmanın kendi gereksinimlerini karşılayabilecek spesifik dokulara yerleşme istekleri ve diğer bakteriler ile olan ilişkilerinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Di Fiori and Del Gallo, 1995). Genellikle, rhizosfer toprağında kültüre alınabilen rhizosfer bakterilerinin popülasyon yoğunluğu yaklaşık olarak 10^7 - 10^9 cfu /g arasındayken, rhizoplanda bitki yaş ağırlığında bu bakterilerin 10^5 - 10^7 cfu/g arasında popülasyon

yoğunluğu oluşturabildiği bildirilmiştir (Bais et al., 2006; Benizri et al., 2001). Birçok bitki türü için bitki dokularında endofitik bakterilerin popülasyon yoğunluğu 1×10^3 - 1×10^5 cfu/g arasında değişmiştir (Dong et al., 1994; Frommel et al., 1991; Lamb et al., 1996; Quadt-Hallmann and Kloepper, 1996).

Bazı endofitik bakteriler, konukçularında besince zengin olan intersellular alanlarda kolonize olmakta ve konukçuları içerisinde bu kısımlarda yayılmaktadırlar (Cavalcante and Dobereiner, 1988; Dong et al., 1994). Bitki içerisinde endofitik bakterilerin taşınmasını bakteriyel kamçı ve bitki transprasyon kanalları desteklemektedir. Üstelik yalnızca bazı endofitik bakteriler bitkinin toprak üstündeki vejetatif kısımlarında kolonize olabilir. Bu endofitik bakteriler, farklı bitki nişlerine yerleşebilmek için gerekli olan fizyolojik bazı özelliklere sahip olmalarının yanında birçok engeli de aşmak durumundadırlar (Hallmann, 2001).

Endofitik *Pseudomonas* sp. ile inokule edilmiş olan patateslerde, kök popülasyonunun final popülasyon yoğunluğu 1×10^6 cfu/cm olup başlangıç popülasyonuna göre artış gösterirken, gövde final popülasyon yoğunluğu, 3.3×10^5 cfu/cm başlangıç popülasyonundan, 1.9×10^3 cfu/cm popülasyon yoğunluğuna doğru düşüş göstermiştir (Frommel et al., 1991). Kök dokularında özellikle kolonizasyonun yoğun bir şekilde görülmesi, endofitlerin bitki içerisine giriş yapmasında başlıca yerin kökler olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır (Sprent and de Faria, 1988).

En yüksek endofitik bakteri yoğunluğu genellikle köklerde olup, gövdeden yapraklara doğru ilerledikçe bu yoğunluk azalmaktadır (Lamb et al., 1996; Quadt-Hallman and Kloepper, 1996). Yapılan bir çalışmada; endofitik bakterilerin yoğunluğunun bitkinin kök bölgesinden büyüme ucuna doğru düzenli bir şekilde azaldığını, mısır bitkisinin gövdesindeki dokularda bu yoğunluğun kök dokularına göre daha düşük oranda olduğu bildirilmiştir (Fisher et al., 1992). Dolayısıyla endofitik bakterilerin ekolojik olarak başarılı olabilmeleri için, kökleri kolonize eden diğer bakterilerle rekabet etmeleri zorunludur (Sørensen and Sessitsch, 2006).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü ve Bahçe Bitkileri Bölümü'nün olanakları kullanılarak *in vitro* testler, fide üretimi ve serada bitki yetiştiriciliği olmak üzere üç aşamalı gerçekleştirilmiştir. *In vitro* testler Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji Laboratuvarı'nda yürütülürken fide üretimi ve serada bitki yetiştiriciliği denemesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne ait olan iklim odası ve polietilen örtülü serada gerçekleştirilmiştir.

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada kullanılan test bitkisi

Ülkemizde yaygın olarak üretimi yapılan Beith Alpha tipinde Gordion F₁ hıyar (*Cucumis sativus* L.) çeşidi çalışmada materyal olarak kullanılmıştır.

3.1.2 Çalışmada kullanılan endofitik bakteriler

Çalışmada, E.Ü.Z.F. Bitki Koruma Bölümü Bakteriyoloji laboratuvarı stoklarında bulunan, örtü altında ve açıkta yetiştirilen sağlıklı hıyar bitkilerinin içsel dokularından izole edilen endofitik bakteri (EB) izolatları kullanılmıştır. Tez çalışması kapsamında EB izolatlarının seçimi için CAS agar ortamında siderofor üretme aktivitesi, Indol 3-asetik asit (IAA) üretme aktivitesi, Hidrojen siyanid (HCN) üretme aktivitesi, Fosfatı çözme aktivitesi ve vigorite indeksi (VI) testleri gibi bazı *in vitro* bitki gelişimini arttırma (PGPR) özellikleri önceden belirlenmiş olan ve -80 °C'de sıvı besiyerinde muhafaza edilen endofitik bakteri (EB) izolatları arasından seçilen 6 adet izolat kullanılmıştır (Şekil 3.1). Bu izolatlara ilişkin bilgiler Çizelge 3.1'de toplu olarak görülmektedir.

Çizelge 3.1 Çalışma sırasında kullanılan Endofitik Bakteri (EB) izolatlarına ilişkin bilgiler (Fakhraei, D. ve Özaktan, H., 2015).

İzolat No	ÖRNEĞİN ALINDIĞI		İZOLATLAR'IN TANIYA DÖNÜK BAZI ÖZELLİKLERİ			İZOLATLARIN IN VITRO BİTKİ GELİŞİMİNİ ARTTIRMA (PGPR) ÖZELLİKLERİ				
	Tarih ve Yer	Bitki Organı	Gram Testi	KB'de floresan Pigment Oluşumu	Tütün HR Testi	Siderofor Üretimi (mm)	IAA Üretimi (ug/ml)	HCN Üretimi	Fosfataz Aktivitesi (mm)	Vigorite indeksi* (%)
37	18.3.12 Komluca	Gövde	-	-	-	7	7	-	1	-3
56	19.3.12 Yeşilköy (Kaş)	Kök	-	-	-	12	13	-	0	10
80	21.6.12 Bayındır	Gövde	-	-	-	7	125	-	4	19
83	21.6.12 Bayındır	Yaprak	-	-	-	7	45	-	6	-9
99	21.6.12 Bayındır	Kök	+	-	-	1	6	-	0	34
112	21.6.12 Bayındır	Yaprak	F. pseudomonas	+	-	6	8	-	1.5	31

*Negatif kontrolde saptanan VI değerlerine göre fark (%) Abbott ile saptanmıştır.



Şekil.3.1 Eb'lerin in vitro koşullarda sırasıyla siderofor, IAA, fosfatı parçalama aktiviteleri

3.1.3 Çalışmada kullanılan besiyerleri

Çizelge 3.2'de belirtildiği gibi EB'lerin *in vitro*'da gerçekleştirilen işlemleri King B, Triptik Soya Agar (TSA) + Rifampicine (200 ppm) gibi besiyerleri kullanılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Schaad et al., 2001).

Çizelge 3.2 Denemelerde kullanılan besiyerleri ve bileşimleri (1lt suya göre).

Besiyeri adı (1000 ml)	Kullanım amacı	İçeriği
King's B (King et al., 1954)	Bakteriyel etmenlerin izolasyonu, pigment oluşumu	Pepton 20 g K ₂ HPO ₄ 1,5 g MgSO ₄ ·7H ₂ O 1,5 g Gliserol 10 ml Agar 16 g 121°C'de 20 dk. Otoklavlanır.
Besiyeri adı (1000 ml)	Kullanım amacı	İçeriği
TSA +Rifampicine(200ppm) (Anonymous, 2010)	Kolonizasyonun incelenmesi ve EB'lere Rifampicine (200 ppm)'e dayanıklılık kazandırılması	Tryptic soy broth 30 g Agar 16 g 121°C'de 20 dk. Otoklavlanır. Rifampicine 200 mg Rifampicine 3-5 ml alkolde çözüldükten sonra sterilize edilmiş 50 °C'ye kadar soğutulmuş TSA ortamına eklenir.

3.1.4 Çalışmada kullanılan yetiştirme ortamı

İklim odasında yürütülen çalışmalarda 10 cm çapında saksılar ve yetiştirme ortamı olarak steril torf kullanılırken, sera denemelerinde boyutları 75*25*16 cm olan plastik saksılar, yetiştirme ortamı olarak ise süper iri perlit kullanılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Denemelerde kullanılan saksı ve yetiştirme ortamlarının görünümü

3.1.5 Çalışmada uygulanan besin çözeltisi

Bitkilerin ihtiyacı olan besin maddeleri suya eklenmek sureti ile besin çözeltisi hazırlanmıştır. Araştırmada kullanılan besin element içeriği Çizelge 3.3'te verilmiştir (Gül ve ark., 2000).

Çizelge 3.3 Denemeler boyunca hıyar bitkisine uygulanan besin çözeltisi reçetesi.

1) İlkbahar dönemi

Hafta	mg/L											EC mS/cm
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo	
1	184	29	228	152	36	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	1.8
2	204	32	250	171	39	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.0
3-4	220	37	284	190	47	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.2
5-6	256	46	353	190	53	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.4
7-9	259	44	350	180	50	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.4
10-12	244	37	323	158	43	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.2
13-19	247	32	291	141	39	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.0
20-,,	224	23	256	125	34	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	1.8

2) Sonbahar dönemi

Hafta	mg/L											EC mS/cm
	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo	
1	184	29	228	152	36	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	1.8
2	204	32	250	171	39	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.0
3	220	37	284	190	47	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.2
4-8	259	44	350	180	50	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.4
9-,,	244	37	323	158	43	2	0.75	0.5	0.4	0.1	0.05	2.2

3.1.6 Moleküler çalışmada kullanılan primerler

EB izolatlarının moleküler tanısında 16 s rRNA bölgesine spesifik universal FD1/RP2 ve 27F/1492R primer çiftleri kullanılmıştır (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4 EB’lerin moleküler tanısı için kullanılan 16 s rRNA primerlerin listesi ve Termal cyclers çalışma koşulları

Fd1 / Rp2 (Weisburg,1991)	Forward primer (5'–3')		Reverse primer (5'–3')		Amplicon uzun.(bp)
	AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG		ACG GCT ACC TTG TTA CGA CTT		~ 1400
27F/1492R (Jiang,2006)	AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG		GGT TAC CTT GTT ACG ACT T		~ 1460
Termal cyclers çalışma koşulları					
1 döngü	35 döngü			1 döngü	1 döngü
95 °C	94 °C	55°C	72 °C	72 °C	15 °C

3.2 Yöntem

3.2.1 EB’lerin *In vivo* koşullarda bitki gelişimini ve verimi artırıcı etkisinin belirlenmesi

In vitro PGPR parametreleri doğrultusunda seçilen EB izolatları sisteme tohum bakterizasyonu ve fidelerin kotiledon yaprak döneminde bakteri süspansiyonunun yetiştirme ortamına içirme uygulaması şeklinde verilmiştir. Belirtilen 6 EB izolatu serada topraksız tarım sisteminde, bitki gelişimi ve verimini artırıcı özellikleri açısından test edilmiştir.

3.2.1.1 Yetiştirme yerlerinin hazırlanması

Denemenin yapıldığı seraya, sıralar arasında 100 cm mesafe olacak şekilde taban seviyesinde 2 adet 16 mm çapında drenaj deliği bulunan plastik saksılar içerisine süper iri perlit eklendikten sonra yerleştirilmiştir. Sera topraksız tarım tekniğine uygun tarzda hazırlanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Seradan genel bir görünüm

3.2.1.2 EB'lerle tohum bakterizasyonu

Tryptic Soya Agar (TSA)'da 24 – 48 saat süreyle geliştirilen EB'ler steril Carboxy Methyl Cellulose (%1'lik CMC) ile süspanse edilerek, önceden yüzeyi %0.2'lik Sodyum-hipoklorit ile dezenfekte edilmiş hıyar tohumları (5g tohum / 10ml bakteri süspansyonu, 10^9 cfu/ml ($OD_{600nm}=0.5$) bu bakteri süspansiyonu içinde 30 dakika boyunca bekletilmiş ve kurutma kağıtları arasında 24°C'de 1 saat kurumaya bırakılmıştır. 24h Kurutulan tohumlar saksılara ekilmiştir. Ayrıca, tohum bakterizasyonu yapılan hıyar tohumlarından 1 gram örnekte EB popülasyonu (cfu/g hıyar tohumu) izolasyon işlemi ile denemenin başlangıcında belirlenmiştir.

3.2.1.3 Bitkilerin yetiştirilmesi

Sonbahar döneminde üretim 05.09.2013 tarihinde fide dikimi ile başlamış 17.12.2013 tarihinde sona ermiştir. İlkbahar döneminde üretim 24.03.2014 tarihinde fide dikimi ile başlamış 30.06.14 tarihine kadar devam etmiştir. Bitki büyüme odasında fide dönemine getirilmiş bitkiler sıra arası 100 cm ve sıra üzeri 25 cm olacak şekilde, her saksıya ilk deneme için 2, ikinci deneme için ise 3 bitki olacak biçimde nemli ortama dikilmiştir. Bitkilerin gelişimini teşvik amacıyla, bitkiler 20-30 cm'ye kadar ilk boğumlardaki yan sürgün ve çiçeklerin temizlenmesi şeklinde budanmış, yapraklara ise dokunulmamıştır. 20-30 cm'den sonra ana gövdedeki tüm meyveler bırakılıp yan sürgünler 1 meyve bırakılacak

şekilde budanmıştır. Üretim devam ettiği sürede gövde üzerinde yaşlanmış, sararmış yapraklar ve boşalan koltuklar temizlenmiştir.

3.2.1.4 EB'lerin yetiştirme ortamına uygulanması

EB izolatları, sıvı TSB'da 48 h süreyle 120 rpm'de geliştirilerek, santrifüjle (3,440xg/10', 4°C) yoğunlaştırılıp pellet elde edilmiş ve bu pellet steril su ile resüspanse edilerek yoğunluğu 10^9 cfu/ml ($OD_{600nm}=0.5$)'ye ayarlanmıştır. Hıyar bitkilerinin kotiledon yaprakları çıktıktan sonra her bitki başına 20 ml bu süspansiyondan inokule edilmiş ve dikim sonrası yetiştirme ortamına aynı yoğunlukta ancak her bir bitkiye 30 ml olacak şekilde uygulama gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Serada EB'lerin içirme uygulaması

3.2.1.5 EB'lerin *in vivo* koşullarda bitki gelişimini ve verimi arttırıcı etkisinin değerlendirilmesi amacıyla yapılan ölçüm ve analizler

Biyokütle

Sonbahar döneminde 19.11.2013, ilkbahar döneminde 30.04.2014 tarihlerinde işaretlenen bitkiler sökülüp kök, gövde, yaprak ve meyveler şeklinde ayrılmıştır. Bitki örnekleri toz vb. maddelerden arındırıldıktan sonra yaş ağırlıkları tartılıp etüvde (65°C'de) sabit ağırlığa ulaşuncaya kadar tutulmuştur. Etüvden çıkarılan örneklerin kuru ağırlığı belirlenmiştir.

Verim

İlk hasattan son hasada kadar her deneme parselinden toplanan meyveler ayrı ayrı tartılmış ve sayılmıştır. Haflalık kümülatif verim (g/bitki) ve meyve sayısı (adet/bitki) belirlenmiştir.

Toplam verimden (g/bitki) standart dışı meyvelerin ağırlığı çıkarılarak pazarlanabilir verim hesaplanmıştır. Aynı şekilde toplam meyve sayısından (adet/bitki) standart dışı meyvelerin sayısı çıkarılarak pazarlanabilir meyve sayısı hesaplanmıştır.

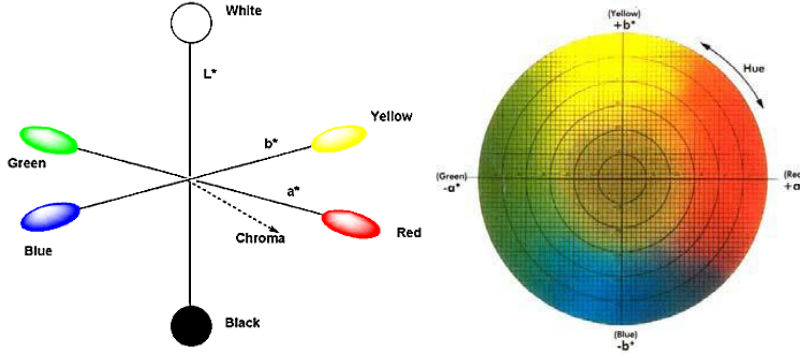
Meyve kalitesi

Meyve kalite analizi için sonbahar döneminde 24.10.14, ilkbahar döneminde 23.05.14 tarihinde her parselden rastgele seçilen 5 meyve alınmış ve çeşitli ölçüm ve analizler yapılmıştır. Meyve çapı (cm) dijital kumpas, meyveboyu (cm) cetveli boylama tahtası yardımıyla ölçülmüştür. Meyve sertliği için meyvelerin kabuğu meyve etinin üzerinden soyulmuş ve soyulan bu kısımda meyve eti sertliği (N) Effe-Gi Fruit Pressure Tester (7.9 mm'lik uç) kullanılarak kg cinsinden ölçülmüş, sonuçlar Newton'a çevrilmiştir.

Meyve rengi Minolta CR-300 renkölçerle L^*a^*b olarak ölçülmüştür (Şekil 3.6). Bu sistemde, renkler üç boyutlu küresel bir uzayda nokta olarak belirlenir. L, siyah:0'dan beyaz:100'a olacak şekilde rengin açıklık veya koyuluğunu, a ve b ise L'ye dik bir renk düzleminde rengi belirler. Eksenin tam ortasında renk (a=0, b=0) renksiz (gri-akromatik)'dir. Yatay ekseninde pozitif a kırmızıyı, negatif a yeşili; dikey eksenindeki pozitif b sarıyı ve negatif b ise maviyi göstermektedir. Rengin temel bileşenlerini (kırmızı, sarı, mavi ve yeşil) belirleyen *hue* ve rengin doygunluğunu, canlılığını belirleyen *kroma değerleri* a ve b'den aşağıdaki formüllere göre hesaplanarak elde edilmiştir (Şekil 3.5).

$$\text{Hue } ^\circ h = \tan^{-1} (b/a)$$

$$\text{Kroma } C^* = \sqrt{(a^2 + b^2)}$$



Şekil 3.5 Minolta CR-300 renk ölçere ait CIE L*a*b renk skalaları.

Alınan meyve örnekleri, darası alınmış plastik kaplara konularak hassas terazide tartılmış ve yaş ağırlıkları alındıktan sonra 65°C'lik etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kuru ağırlıkları ölçülüp, % toplam kuru ağırlık hesaplanmıştır (Kacar, 1972).

Toplam suda çözünabilir kuru madde miktarı (TSÇKM %) belirlenirken ise yine rastgele seçilen 3-4 adet meyveden blander yardımıyla elde edilen meyve püresi bir tülbent yardımıyla süzülerek bu süzükten 4-5 damla örnek Euromex dijital el reflaktometresi ile okunup sonuçlar % olarak verilmiştir. Süzüğe batırılan masa tipi İnolab marka EC metreprobu (dS/cm) yardımı ile yapılan okumalar sonucunda meyve suyunun EC değeri elde edilmiştir. Benzer şekilde süzüğe batırılan masa tipi (Medler Toledo) metre probu yardımı ile okuma yapılmış ve meyve suyunun pH değeri değerlendirilmiştir.

3.2.2 EB'lerin bitki içinde kolonizasyonunun izlenmesi

Endofitik Bakterilerin bitki içerisinde zamana ve bitki gelişme aşamalarına bağlı olarak populasyonundaki değişiminin seçici olarak izlenmesi amacıyla; söz konusu EB izolatları 200 ppm (ug/ml) Rifamicin'e dayanıklı kılınarak etiketlenmiştir. EB'ler, 200 ppm Rifampicin içeren TSA besiyerine ekilerek 24 °C' de 48 saat inkübe edilmiştir. Bakteri kültürleri %1.5'luk CMC (Karboksil Metil Selüloz) ile süspanse edilmiştir. EB süspanسیونları hıyar tohumlarıyla kaplandıktan sonra bu tohumlar kurutma kâğıtlarına aktarılmış, kuruması için 24h bekletildikten sonra steril torfla doldurulmuş plastik saksılara ekilmiştir. Kotiledon yapraklar görüldükten sonra, EB' ler toprağa içirme biçiminde tekrar

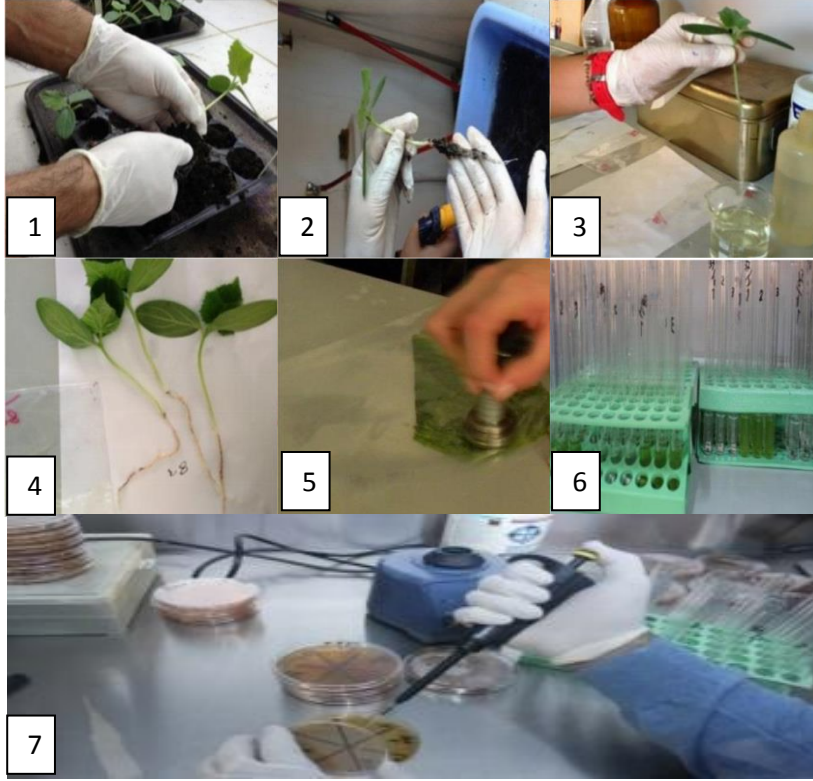
uygulanmıştır. 62 gün süreyle büyüme odasında tutulan bitkilerde EB'lerin kolonizasyonunu takip etmek için uygun görülen örnek alınma zamanları Çizelge 3.5'te gösterildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.5 EB'lerin bitki içerisinde kolonizasyonunu takip etmek için uygun görülen örnek alınma zamanları.

1.	Tohum bakterizasyonundan 30 dk. sonra tohumdaki EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi
2.	Tohum bakterizasyonundan 24 h. sonra, yüzey dezenfeksiyonu yapılan tohumdaki EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi
3.	Kotiledon başlangıcı döneminde alınan bitki örneklerinde EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
4.	Kotiledon sonu döneminde alınan bitki örneklerinde EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
5.	1. gerçek yaprak döneminde alınan bitki örneklerinde EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
6.	2. gerçek yaprak döneminde alınan bitki örneklerinde EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
7.	Tohum bakterizasyonundan 28 gün sonra EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
8.	Tohum bakterizasyonundan 33 gün EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
9.	Tohum bakterizasyonundan 42 gün sonra EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
10.	Tohum bakterizasyonundan 50 gün sonra EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi,
11.	Tohum bakterizasyonundan 62 gün sonra EB'lerin kolonizasyonunun incelenmesi.

Hıyar bitkilerinde EB'lerin popülasyonunu izlemek amacıyla alınan bitki örneklerinin sadece köklerine yüzey dezenfeksiyonu uygulanmıştır. Bitki kesitleri % 5 oranında hazırlanmış sodyum hipokloritte 15 sn bekletildikten sonra, 3 kez steril sudan geçirilerek kurutma kağıtları arasında kurutulmuş ve son yıkama suyundan 200 ppm Rifampicine içeren TSA'ya ekim yapılarak, 72 saat süreyle inkubasyona bırakılmıştır. Son yıkama suyunda bakteriyel bir gelişme gözlenmediğinde EB izolasyonu başarılı kabul edilmiştir. Daha sonra bitki örnekleri, kök ve gövde kesitleri şeklinde ikiye ayrılmış ve ayrı ayrı tartılarak ağırlıkları belirlenen kök ve gövde kesitleri, steril polietilen torbalara konularak stomaker yardımıyla ezilmiştir. Kök ve gövde kesitlerinin ağırlıklarının 10 katı steril saf su bu torbalara konulmuş ve 30 dakika 120 rpm de çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Elde edilen bu süspansiyondan seyreltme basamakları

oluşturularak Rifampicine (200 ppm) içeren TSA ortamına 20 µl damlatılarak ekimler yapılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6 EB'lerin bitki içerisinde kolonizasyonunu belirlemek için kullanılan yöntemin aşamalarından bir görünüm; 1) örneklerin alınma aşaması, 2) alınan örneklerin köklerinin yıkanma aşaması, 3) köklerin dezenfeksiyon aşaması, 4-5) örnekleri kurutma ve ezme aşaması, 6) bitki ekstraksiyonundan seyreltme serileri hazırlanma aşaması 7) ekim aşaması

Denemeler Tesadüf Blokları deneme desenine göre, her örnekleme döneminde örnekler 3 tekerrürlü alınacak şekilde kurulmuştur. Böylece EB'lerin hıyar bitkilerinin tohum ekimi aşamasından başlayarak kök ve toprak üstü dokularındaki kolonizasyonu zamana bağlı olarak değerlendirilmiştir.

3.2.3 EB izolatların tanısı

EB'lerin moleküler tanısında 16s rRNA hedef bölgesine göre dizayn edilmiş Fd1/Rp2 ve 27F/1492R primer çiftleri kullanılmıştır. Hazırlanan master mix ve Termal Cykler koşulları Çizelge 3.6'da verilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri TAE buffer (Fermentase, 0.5M) ile hazırlanan %1,5'luk Agaroz jelde 80 Voltta 1saat elektroforezde koşularak sonuçlar UV transilluminator görüntüleme cihazında

bantların varlığıyla değerlendirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri sekans analizine gönderilmiş (Macrogen, Invitrogen) ve sekans sonuçları NCBI veri tabandaki bilgiler ile karşılaştırılarak EB izolatları tanımlanmıştır.

Çizelge 3.6 Fd1/Rp2 ve 27F/1492R 16s rRNA primerleri için kullanılan master mix için gerekli kimyasallar ve miktarları.

16s rRNA Fd1/Rp2 ve 27F/1492R primerleri için master mix				
Gerekli Kimyasallar	Başlangıç Stok	Final Konsantrasyon	1 örnek için gerekli miktar	Sekansa göndermek için gerekli miktar (50µL)
TaqKClBuffer	10 X	1 X	2 µl	5 µl
MgCl ₂	25 mM	1,5 mM	1,2 µl	3 µl
dNTP	2,5mM	0,2 mM	1,6 µl	4 µl
Fd1 Forward	10 mM	1 mM	2 µl	5 µl
Rp2 Reverse	10mM	1 mM	2 µl	5 µl
H ₂ O	-	-	8 µl	20 µl
TaqPolimeraz	5 U	1 U	0,2 µl	0.5 µl
Örnek Nükleik Asit	10 ⁷ CfU/ml (OD ₆₀₀ ; 0,5)		3 µl	7.5 µl
Toplam hacim	-	-	20 µl	50 µl

3.2.4 Verilerin analizi

Elde edilen verilere, bilgisayarda SPSS (SPSS Inc. PASW Statistics versiyon 21) paket programı ile varyans analizi uygulanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar % 5 hata olasılığı ile yapılan DUNCAN testiyle belirlenmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Endofitik Bakterilerin Serada Bitki Gelişimini Arttırıcı Özelliklerine Yönelik Testlerin Sonuçları

EB izolatlarının hıyar bitkisinin kök / yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına (biyokütle), meyve verimine ve kalite parametrelerine etkisi sonbahar ve ilkbahar olmak üzere 2 farklı yetiştirme döneminde topraksız tarım koşullarında denenmiştir.

4.1.1 Sonbahar döneminde elde edilen sonuçlar

4.1.1.1 Biyokütle oluşumu

EB uygulamalarının kök gelişimi üzerine etkisi değerlendirildiğinde, kök yaş ağırlığı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). 56 no.lu izolat kök yaş ağırlığını kontrole kıyasla %88 oranında arttırmıştır (Şekil 4.1); bu uygulamayı sırasıyla 83, 80 ve 112 no.lu EB uygulamaları izlemiştir. 37 ve 99 no.lu izolatlar ile inokule edilen bitkilerin kök yaş ağırlığı ise kontrol bitkilerinin kök yaş ağırlığına yakın değerler vermiş ve diğer EB uygulamalarından istatistiksel olarak farklı grupta yer almıştır. Uygulamalara bağlı olarak kök kuru ağırlığının değişimi kök yaş ağırlığındaki değişime benzer gerçekleşmiştir. Ancak; kök kuru ağırlığı değerleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. 56 no.lu izolat ile inokule edilen bitkilerin kök kuru ağırlığı, kontrole göre %64 düzeyinde artış göstermiş, bu uygulamayı 83 ve 80 no.lu EB uygulamaları izlemiştir. Kök yaş ve kuru ağırlık sonuçları istatistiksel açıdan desteklenmese de, birbiriyle tutarlı bulunmuştur.

Çizelge 4.1. EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin kök yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	KÖK YAŞ AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***	KÖK KURU AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***
Kontrol	21.33 b**	-	1.38**	-
37	21.08 b	-1.2	1.35	-2.2
56	40.10 a	88.0	2.26	63.8
80	24.71 ab	15.8	1.54	11.6
83	25.48 ab	19.5	1.55	12.3
99	21.60 b	1.3	1.46	5.8
112	24.38 ab	14.3	1.61	16.7

*Değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan uygulamalar $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.



Şekil 4.1 EB'lerin hıyar bitkilerinin kök gelişimine etkisi

EB uygulamalarının yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkisine ilişkin sonuçlar Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelgedeki sonuçlardan; EB uygulamalarının yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkileri istatistiksel açıdan önemsiz bulunduğu anlaşılmaktadır. Bununla birlikte; EB inokule edilen bitkilerin yeşil aksam yaş ağırlıkları, 112 no.lu EB uygulaması hariç, kontrol uygulamasına göre % 14-41 oranında artış göstermiştir. Bu arada, EB uygulamalarının tümü Kontrole kıyasla yeşil aksam kuru ağırlığını %2-30 oranında arttırmayı başarmıştır.

Çizelge 4.2. EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	YEŞİL AKSAM YAŞ AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***	YEŞİL AKSAM KURU AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***
Kontrol	245.73 ö.d.**	-	38.21 ö.d.**	-
37	330.13	34.3	38.92	1.9
56	346.08	40.8	45.07	18.0
80	339.65	38.2	48.50	26.9
83	300.24	22.2	49.68	30.0
99	279.08	13.6	41.82	9.4
112	187.90	-23.5	44.24	15.8

*Değerler 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan uygulamalar P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

EB uygulamalarının meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi % 95 güvenle önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Biyokütle oluşumunu belirlemek üzere sökülün bitkilerden hasat edilen meyvelerin yaş ağırlığı, EB inokule edilen bitkilerde kontrole kıyasla %4-27 oranında yüksek bulunmuştur. Özellikle 56 ve 80 no.lu EB uygulamaları ise; istatistiksel açıdan Kontrolden tamamen farklı grupta yer almıştır. Meyve kuru ağırlığı sonuçlarına bakıldığında; 112 no.lu izolat ile inokule edilen bitkilerden elde edilen değerler, istatistiksel açıdan Kontrolden tamamen farklı bulunurken, 99 no.lu izolat ise Kontrol ile aynı grupta yer almıştır.

Çizelge 4.3. EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) hıyar bitkilerinin meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	MEYVE YAŞ AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***	MEYVE KURU AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)**	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***
Kontrol	3357 c**	-	96.2 b**	-
37	3819 abc	13.8	126.5 ab	31.5
56	4261 a	26.9	121.4 ab	26.2
80	4132 ab	23.1	127.0 ab	32.0
83	4053 abc	20.7	130.3 ab	35.4
99	3491 bc	4.0	94.0 b	-2.3
112	3723 abc	10.9	139.7 a	45.2

*Değerler 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan uygulamalar P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

4.1.1.2 Verim

Sonbahar döneminde hasatlara 11 hafta devam edilmiştir. Uygulamalara bağlı olarak toplam verimin Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi değiştiği saptanmıştır. Uygulamalar arasındaki farklılıklar %95 güvenle önemli bulunmuş, EB uygulamalarının kontrole kıyasla verimi arttırdığı belirlenmiştir. Toplam verimi artırma açısından kontrole kıyasla en başarılı uygulamanın 56 no.lu EB uygulaması olduğu, bunu 80 ve 83 no.lu EB izolatlarının izlediği saptanmıştır. EB uygulamaları kontrol uygulamasına göre, toplam verimde (g/bitki) % 5-28 oranında bir artışa neden olmuştur.

Çizelge 4.4 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) toplam verime etkisi.

UYGULAMALAR	TOPLAM VERİM (G/BİTKİ) *	TOPLAM VERİME ETKİ (%)***
Kontrol	3977 c**	-
37	4719 abc	18.7
56	5093 a	28.1
80	4857 ab	22.1
83	4808 ab	20.9
99	4182 bc	5.2
112	4415 abc	11

*Değerler 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarındaki toplam verim (g/bitki) değerlerinin K(-)'den farkını göstermektedir.

Uygulamaların toplam meyve sayısına etkisi Çizelge 4.5'te verilmiştir. EB uygulamalarının kontrole kıyasla toplam meyve sayısını arttırdığı belirlenmiştir. Bu açıdan en başarılı uygulamaların 80 ve 56 no.lu EB izolatları olduğu saptanmıştır, bu EB'ler kontrole kıyasla meyve sayısını sırası ile %24 ve %23 düzeyinde arttırmıştır.

Çizelge 4.5 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) toplam meyve sayısına etkisi.

UYGULAMALAR	TOPLAM MEYVE SAYISI (ADET/BİTKİ) *	TOPLAM MEYVE SAYISINA ETKİ (%)***
Kontrol	32.6 b**	-
37	39.3 ab	20.6
56	40.2 a	23.3
80	40.4 a	23.9
83	38.9 ab	19.3
99	34.8 ab	6.7
112	37.2 ab	14.1

*Değerler 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

EB uygulamalarının pazarlanabilir verime etkisinin %95 güvenle önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.6). EB uygulamalarının kontrole kıyasla pazarlanabilir verimi %7-%30 arasında değişen oranlarda artırdığı belirlenmiştir. Pazarlanabilir verimi arttırma açısından kontrole kıyasla en başarılı uygulamanın 56 no.lu EB uygulaması olduğu saptanmıştır, bu uygulamayı 80 ve 83 no.lu EB izolatlarının izlediği saptanmıştır.

Çizelge 4.6. EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) pazarlanabilir verime etkisi.

UYGULAMALAR	PAZARLANABİLİR VERİM (G/BİTKİ) *	PAZARLANABİLİR VERİME ETKİ (%)***
Kontrol	3771 c **	-
37	4536 abc	20.3
56	4893 a	29.8
80	4690 ab	24.4
83	4681 ab	24.1
99	4016 bc	6.6
112	4325 abc	14.7

*Değerler 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

Uygulamaların pazarlanabilir meyve sayısına etkisi Çizelge 4.7'de verilmiştir. EB uygulamalarının kontrole kıyasla pazarlanabilir meyve sayısını %8-24 arasında değişen düzeylerde artırdığı belirlenmiştir. Bu açıdan en başarılı uygulamanın 80 no.lu EB izolatı olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.7. EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) pazarlanabilir meyve sayısına etkisi.

UYGULAMALAR	PAZARLANABİLİR MEYVE SAYISI (G/BİTKİ) *	PAZARLANABİLİR MEYVE SAYISINA ETKİ (%)***
Kontrol	31.3 ö.d. **	-
37	37.9	21.1
56	38.6	23.3
80	38.9	24.3
83	37.9	21.1
99	33.7	7.7
112	36.4	16.1

*Değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

EB uygulamalarının meyvelerin ortalama ağırlıklarına (Çizelge 4.8) olan etkisi incelendiğinde, 56 numaralı izolat ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin en yüksek (127.3 g), 112 numaralı izolat ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin en düşük (118.9 g) değere sahip oldukları; kontrol ve diğer EB uygulamalarının ise bahsedilen uygulamaların arasında yer aldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.8 EB uygulamalarının sonbahar döneminde (2013) ortalama meyve ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	ORTALAMA MEYVE AĞIRLIĞI (G/BİTKİ) *	ORTALAMA MEYVE AĞIRLIĞINA ETKİ (%)***
Kontrol	120.7 ab**	-
37	119.2 ab	-1.2
56	127.3 a	5.5
80	120.6 ab	-0.1
83	123.5 ab	2.3
99	119.2 ab	-1.2
112	118.9 b	-1.5

*Değerler 3 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

4.1.1.3 Meyve kalitesi

Meyve kalitesi ile ilgili olarak belirlenen çap, uzunluk, meyve sertliği, kuru madde miktarı, TSKM, meyve suyunun EC'si ve pH'sı ile meyve kabuk rengi değerleri izelge 4.10'da sunulmuştur. Meyve apı üzerine uygulamalarının etkisi istatistiksel anlamda ($P \leq 0.05$) önemli bulunmuştur. 56 numaralı EB izolatu ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin çapı en fazla (3.7 cm) olurken, 80 ve 99 nolu izolat uygulanan bitkilerden hasat edilen meyvelerin çapı en düşük olmuştur. Bununla birlikte, kontrol uygulaması da EB uygulamaları arasında yer almıştır. Meyve uzunluğu ise 83 no.lu EB uygulamasında en yüksek (16.9 cm) değerde bulunurken, 112 no.lu EB uygulamasında ise en düşük (14.5 cm) bulunmuştur. 56, 83 ve 112 numaralı EB izolatları ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin, kontrol uygulamasına ait meyvelere kıyasla daha sert olduğu belirlenmiştir(Şekil 4.2).

Meyvelerin kuru madde içeriği incelendiğinde, 112 numaralı EB izolatu ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin, kontrol uygulamasına ait meyvelere kıyasla daha yüksek kuru madde içeriğine sahip olduğu, 56 ve 99 numaralı EB izolatlarının ise kontrol ile aynı istatistiksel grupta yer aldığı saptanmıştır. Meyvelerin TSKM içeriği, meyve suyunun EC'si ve pH'sı ile meyve rengi üzerine uygulamaların etkisi istatistiksel önem düzeyinde değildir (izelge 4.9).



Şekil 4.2 Hıyar meyve kalite analizi

Çizelge 4.9 Sonbahar döneminde EB uygulamalarının meyve kalitesine etkisi.

UYG.	Meyve Çapı (cm)*	Meyve Boyu (cm)*	Meyve Sertliği (Newton)*	Kuru Madde (%)*	TŞÇKM (%)*	EC (mS/cm)*	pH*	Renk (H ⁰)*	Renk (C ⁰)*
Kontrol	3.4 ab**	15.3 ab**	3.6 b**	2.86 b**	3.60 ö.d.**	4.71 ö.d.**	5.74 ö.d.**	235.9 ö.d.**	25.0 ö.d.**
37	3.3 ab	15.9 ab	3.6 b	3.32 ab	3.73	4.75	5.73	235.9	24.6
56	3.7 a	15.8 ab	4.1a	2.85 b	3.63	4.55	5.75	235.4	23.2
80	3.3 b	15.0 b	4.0 ab	3.08 ab	3.67	4.70	5.76	236.1	24.7
83	3.3 ab	16.9 a	4.2 a	3.20ab	3.70	4.52	5.80	235.0	22.7
99	3.1 b	14.6 b	3.8 ab	2.70 b	3.57	4.67	5.77	235.1	22.6
112	3.5 ab	14.5 b	4.1 a	3.76 a	3.57	4.77	5.79	235.6	24.2

*Değerler 3 tekerrür ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

4.1.2 İlkbahar döneminde elde edilen bulgular

4.1.2.1 Biyokütle oluşumu

Uygulamaların ilkbahar döneminde kök yaş ve kuru ağırlığına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bununla birlikte, kök yaş ağırlığı bakımından 37 ve 99 numaralı EB izolatlarının, kök kuru ağırlığı bakımından ise 37, 99 ve 80 numaralı EB izolatlarının kontrolden daha düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.10). İstatistiksel açıdan farklı bulunmamakla birlikte; kök yaş ağırlığı açısından en başarılı uygulamalar 56, 83 ve 112 no.lu EB uygulamaları olduğu; kök kuru ağırlığı açısından ise 56 ve 112 no.lu uygulamaların başarılı olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.10 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) döneminde hıyar bitkilerinin kök yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	KÖK YAŞ AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***	KÖK KURU AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***
Kontrol	30.14 ö.d.**	-	1.38 ö.d.**	-
37	18.73	-37.9	0.95	-31.2
56	31.29	3.8	1.68	21.7
80	27.22	9.7	1.32	-4.3
83	30.17	0.1	1.47	6.5
99	24.63	-18.3	0.98	-29.0
112	33.03	9.6	1.65	19.6

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

Yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığı bakımından da uygulamalar arasında istatistiksel anlamda bir fark olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.11). Bununla birlikte; EB ile inokule edilen bitkilerde yeşil aksam yaş ağırlığının kontrole kıyasla %17-37 oranında yüksek olduğu; yeşil aksam kuru ağırlığının ise %21-44 oranında yüksek olduğu değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.11 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) hıyar bitkilerinin yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

UYGULAMALAR	YEŞİL AKSAM YAŞ AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***	YEŞİL AKSAM KURU AĞIRLIĞI (G/BİTKİ)*	KONTROLE KIYASLA DEĞİŞİM (%)***
Kontrol	112.03 ö.d.**	-	14.22 ö.d.**	-
37	131.09	17.0	19.93	40.2
56	153.26	36.8	19.86	39.7
80	142.16	26.9	18.51	30.2
83	149.95	33.8	19.98	40.5
99	142.60	27.3	17.24	21.2
112	146.01	30.3	20.47	44.0

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

EB uygulamalarının meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi Çizelge 4.12'de verilmiştir. İlkbahar döneminde biyokütle oluşumunu belirlemek üzere sökülün

bitkilerden hasat edilen meyvelerin yaş ağırlığının, EB inokule edilen bitkilerde kontrol bitkilerinin yaş ağırlıkları ile yakın değerler verdiği tespit edilmiştir. Uygulamaların ilkbahar döneminde meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Meyve kuru ağırlıklarında da benzer şekilde ağırlık artışına neden olmadıkları belirlenmiştir.

Çizelge 4.12 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) hıyar bitkilerinin meyve yaş ve kuru ağırlığına etkisi.

Uygulamalar	Meyve yaş ağırlığı (g/bitki)*	Kontrole kıyasla değişim (%)***	Meyve kuru ağırlığı (g/bitki)*	Kontrole kıyasla değişim (%)***
Kontrol	918 ö.d.**	-	51.1öd**	-
37	560	-39.9	20.0	-60.9
56	872	-5.0	33.4	-34.6
80	819	-10.8	28.6	-44.0
83	703	-23.4	28.7	-43.9
99	768	-16.3	30.0	-41.3
112	762	-17	32.2	-37

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir.

4.1.2.1 Verim

İlkbahar döneminde hasatlara 12 hafta devam edilmiştir. Bu dönemde uygulamaların toplam verime etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.13). Test edilen EB'lerden 80, 56 ve 83 toplam verimi negatif kontrole kıyasla, sırasıyla, %14, %13 ve %9 oranında artırırken, 99 ve 37 numaralı EB izolatları ise toplam verimi düşüren uygulamalar olarak dikkati çekmiştir.

Çizelge 4.13 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) toplam verime etkisi.

UYGULAMA	TOPLAM VERİM (g/bitki)*	TOPLAM VERİME ETKİ (%)***
Kontrol	2913 ö.d.**	-
37	2906	-0.2
56	3276	12.5
80	3318	14
83	3160	8.5
99	2763	-5.2
112	2961	1.7

*Değerler 5 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir

Toplam verime benzer şekilde, toplam meyve sayısı bakımından da uygulamalar arasındaki farklılıklar önemli olmamıştır (Çizelge 4.14). Test edilen EB'ler, 37 numaralı izolat dışında, kontrole kıyasla meyve sayısında %5.0 (99 no.lu EB) ile %13.8 (56 no.lu EB) arasında değişen artış sağlamıştır.

Çizelge 4.14 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) toplam meyve sayısına etkisi.

UYGULAMA	TOPLAM MEYVE SAYISI (adet/bitki)*	TOPLAM MEYVE SAYISINA ETKİ (%)***
Kontrol	26 ö.d.**	-
37	25.8	-0.8
56	29.6	13.8
80	28.6	10
83	28.4	9.2
99	27.3	5
112	27.4	5.4

*Değerler 5 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir

Pazarlanabilir verim değerleri incelendiğinde, uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan önemli olmadığı saptanmıştır. Test edilen tüm EB'ler pazarlanabilir verimi kontrol uygulamasına kıyasla artırmıştır, en yüksek artış %15.6 oranıyla 80 numaralı EB izolatında gerçekleşmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) pazarlanabilir verime etkisi.

UYGULAMA	PAZARLANABİLİR VERİM (g/bitki)*	PAZARLANABİLİR VERİME ETKİ (%)***
Kontrol	2790.8 ö.d.**	-
37	2794.5	0.1
56	3196.6	14.5
80	3224.9	15.6
83	3149.5	12.8
99	3074.7	10.2
112	2940.1	5.3

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir

Bitki başına elde edilen pazarlanabilir özellikteki meyvelerin sayısına uygulamaların etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.16). Test edilen EB'ler, kontrole kıyasla, 37 numaralı izolat dışında, pazarlanabilir meyve sayısını arttırmıştır.

Çizelge 4.16 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) pazarlanabilir meyve sayısına etkisi.

UYGULAMA	PAZARLANABİLİR MEYVE SAYISI (g/bitki)*	PAZARLANABİLİR MEYVE SAYISINA ETKİ (%)***
Kontrol	24.9 ö.d.**	-
37	24.8	-0.5
56	28.8	15.7
80	27.7	11.3
83	28.3	13.7
99	26.8	7.7
112	27.3	9.6

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir

Pazarlanabilir özellikteki meyvelerin ortalama ağırlığının uygulamalara bağlı bir değişim göstermediği, farklılıkların tesadüften kaynaklandığı belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17 EB uygulamalarının ilkbahar döneminde (2014) ortalama meyve ağırlığı üzerine etkisi.

UYGULAMA	ORTALAMA MEYVE AĞIRLIĞI (g/bitki)/*	ORTALAMA MEYVE AĞIRLIĞINA ETKİ (%)***
Kontrol	111.5 ö.d.**	-
37	111.8	0.3
56	110.3	-1.1
80	115.8	3.9
83	110.8	-0.7
99	114.5	2.7
112	107.6	-3.5

*Değerler 5 tekrerrün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır.

***Değerler Abbott formülüne göre EB uygulamalarının K(-)'den farkını göstermektedir

4.1.2.3 Meyve kalitesi

Belirlenen meyve kalite özellikleri (çap, uzunluk, meyve sertliği, kuru madde miktarı, TSÇKM, meyve suyunun EC'si ve pH'sı ile meyve kabuk rengi değerleri) Çizelge 4.18'de verilmiştir. Meyve çapı üzerine uygulamaların etkisi istatistiksel anlamda ($P \leq 0.05$) önemli bulunmuştur. 37 numaralı izolat ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin çapı en fazla (3.7 cm) olurken, 80 numaralı izolat ile inokule edilen bitkilerin meyvelerinin çapı en düşük (3.2 cm) olmuştur. Bununla birlikte, kontrol uygulaması da EB uygulamaları (56, 99 ve 112) arasında yer almıştır. Meyve uzunluğu açısından en başarılı uygulama ise 16.8 cm ile 99 no.lu EB uygulaması olmuştur (Çizelge 4.18).

83 numaralı EB izolatı ile inokule edilen bitkilerden hasat edilen meyvelerin, kontrol uygulamasına ait meyvelere kıyasla daha sert olduğu belirlenmiştir. Meyvelerin kuru madde içeriği incelendiğinde, EB uygulamalarına

kıyasla, kontrole ait meyvelerin daha yüksek kuru madde içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Meyvelerin TSÇKM içeriği, meyve suyunun EC'si ve pH'sı ile meyve rengi üzerine uygulamaların etkisi istatistiksel önem düzeyinde değildir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18 İlkbahar döneminde EB uygulamalarının meyvelerin çapı, boyu, toplam suda erir kuru madde içeriği ve sertliği, meyvelerin renk, EC ve pH değeri üzerine etkileri.

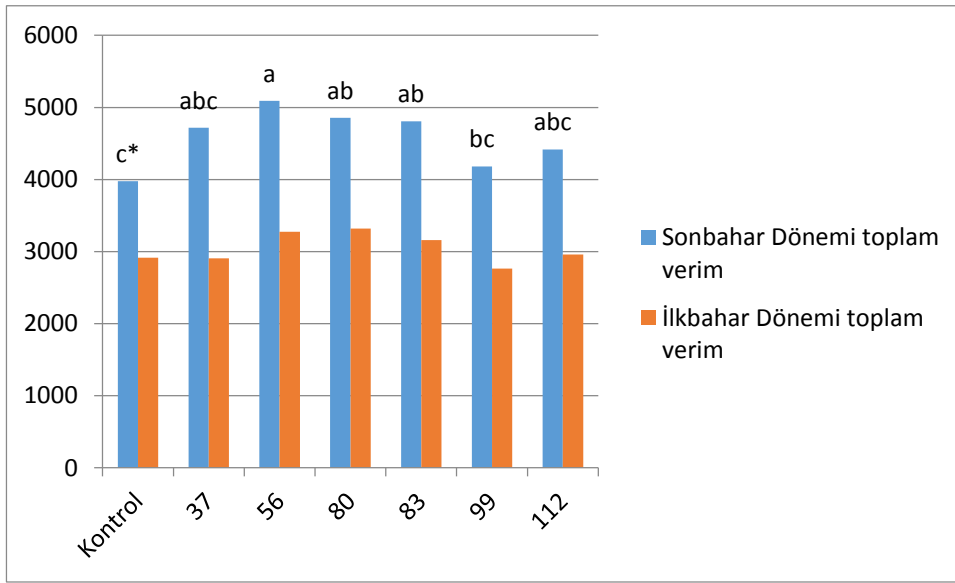
UYG.	Meyve Çapı (cm)*	Meyve Boyu (cm)*	Meyve Sertliği (Newton)*	Kuru Madde (%)*	TSÇKM (%)*	EC (mS/cm)*	pH*	Renk (H ⁰)*	Renk (C ⁰)*
Kontrol	3.4 ab**	14.3 b**	3.6 b**	5.27 ö.d.**	3.66 ö.d.**	5.69 ö.d.**	5.78 ö.d.**	234.9 ö.d.**	18.0 ö.d.**
37	3.7 a	16.0 ab	4.1 ab	3.77	3.70	5.61	5.64	234.3	17.1
56	3.4 ab	16.6 a	4.1 ab	3.73	3.78	5.75	5.70	234.1	15.3
80	3.2 b	15.1 bc	3.9 abc	3.77	3.66	5.70	5.48	234.6	17.3
83	3.7 a	16.0 ab	4.3 a	4.07	3.58	5.73	5.52	232.8	15.7
99	3.3 ab	16.8 a	3.9 bc	3.78	3.62	5.48	5.67	231.6	15.7
112	3.6 ab	15.3 bc	3.9 abc	4.08	3.66	5.51	5.66	233.6	15.7

*Değerler 5 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

4.1.3 Sonbahar ve ilkbahar döneminde yapılan denemelerin biyokütle ve verim sonuçlarının toplu olarak değerlendirilmesi

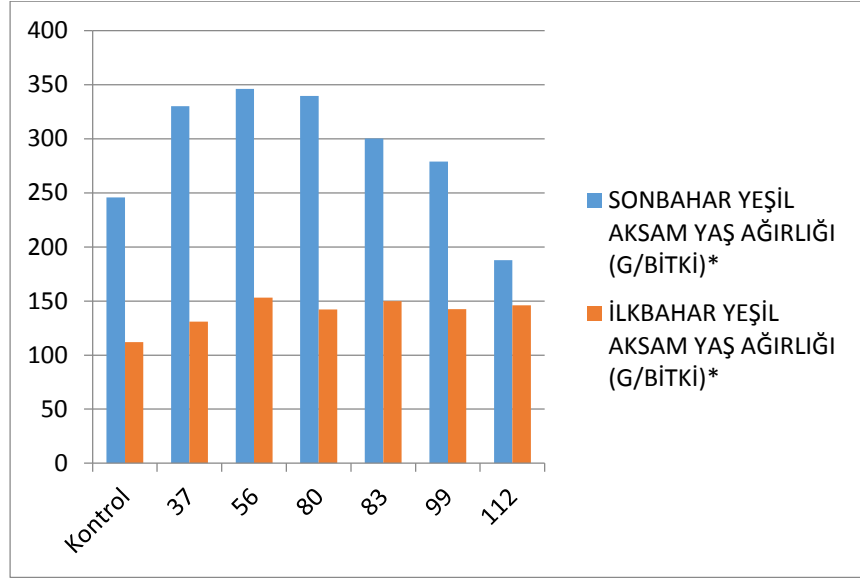
4.1.1. ve 4.1.2. bölümünde çizelgeler halinde ayrı olarak verilen sonbahar ve ilkbahar üretimine ilişkin toplam meyve verimi ve biyokütle (kök+yeşil aksam yaş ve kuru ağırlık) değerleri karşılaştırmalı olarak birarada değerlendirilmiştir. Her iki üretim sezonuna ilişkin toplam verim değerleri Şekil 4.3.'de birlikte görülmektedir.



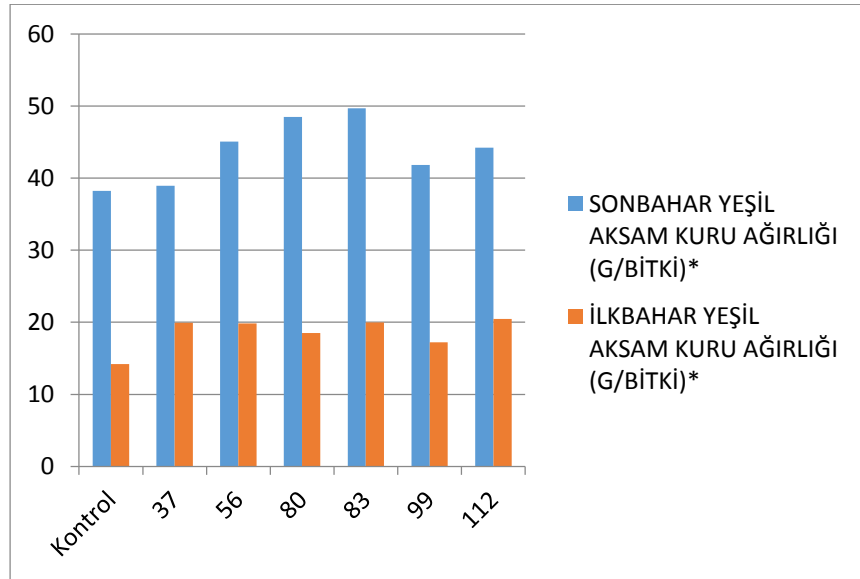
Şekil 4.3. Sonbahar ve İlkbahar Dönemi toplam verim sonuçları (* Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır)

Şekil 4.3.'deki değerlerden her iki üretim sezonunda da negatif kontrole kıyasla toplam meyve verimini artıran EB uygulamasının 56 no.lu izolat olduğu, bunu 80 ve 83'ün izlediği anlaşılmaktadır.

Şekil 4.4'de; sonbahar ve ilkbahar üretim döneminden elde edilen yeşil aksam yaş ağırlık değerleri, Şekil 4.5'de ise yeşil aksam kuru ağırlık değerleri toplu olarak görülmektedir. Her iki şekilde de, 56, 80 ve 83 no.lu EB izolatlarının negatif kontrole oranla yeşil aksam yaş ve kuru ağırlığını artırdığı gözlenmektedir.

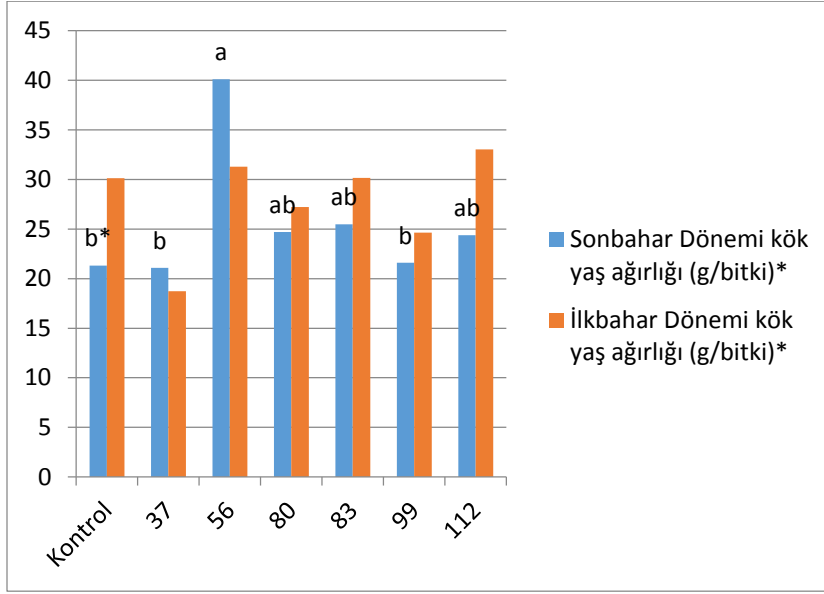


Şekil 4.4. Sonbahar ve İlkbahar Dönemi yeşil aksam yaş ağırlığı sonuçları (* Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır)

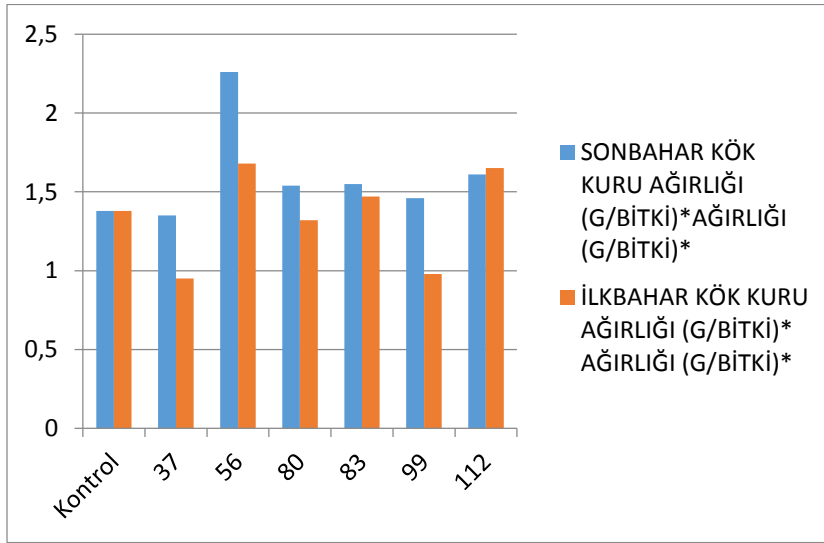


Şeki 4.5. Sonbahar ve İlkbahar Dönemi yeşil aksam kuru ağırlığı sonuçları (* Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır)

Şekil 4.6'de; sonbahar ve ilkbahar üretim döneminden elde edilen kök yaş ağırlık değerleri, Şekil 4.7'de ise kök kuru ağırlık değerleri toplu olarak görülmektedir. Her iki şekilde de, 56 no.lu EB izolatının negatif kontrole oranla kök yaş ve kuru ağırlığını arttırdığı gözlenmektedir.



Şekil 4.6. Sonbahar ve İlkbahar Dönemi kök yağı ağırlığı sonuçları (* Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır)



Şekil 4.7. Sonbahar ve İlkbahar Dönemi kök kuru ağırlığı sonuçları (*Duncan testine göre aynı harfi taşıyan işlemler $P=0.05$ olasılıkla birbirinden farklıdır)

4.2 EB'lerin Bitki İçinde Kolonizasyonu

EB uygulamalarının hıyar bitkilerinde zamana bağlı olarak kolonizasyonu ve popülasyonu araştırılmıştır. EB'lerin hıyar bitkisinin kök ve toprak üstü dokularındaki zamana bağlı kolonizasyon sonuçları Çizelge 4.19 ve Şekil 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.19 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin yeşil aksamında zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişimi.

	İzolat	Örnekleme Zamanı											
		1*	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*	9*	10*	11*	12*
Yeşil Aksam (cfu/g bitki)	37	9.9 x10 ⁹ ö.d**	2.7 x10 ⁸ ö.d**	3.8x1 0 ⁶	1x10 ⁶ d	3.8x1 0 ⁴ b	1.6x1 0 ⁸	1.2x1 0 ⁵ a	6.5.x 10 ⁴ a	8.2x1 0 ⁴ a	2.5x1 0 ⁴ c	2.8 x10 ⁵ a	2.4 x10 ⁵
	56	8.2 x10 ⁹	2.4 x10 ⁸	3x10 ⁸	6.2x1 0 ⁷ b	1x10 ⁷ a	1.5x1 0 ⁶	1.1x1 0 ⁴ b	1.2x1 0 ⁵ a	1.1x1 0 ⁵ ab	1.7x1 0 ⁴ c	-	-
	80	8.1 x10 ⁹	2.3 x10 ⁸	2.2x1 0 ⁶	3.6x1 0 ¹⁰ a	7.9x1 0 ⁵ ab	3.7x1 0 ⁶	1.3x1 0 ⁵ b	8.7x1 0 ⁴ a	1x10 ⁴ bc	2x10 ⁵ b	3.8 x10 ⁵ ab	2.2x 10 ⁵
	83	9.9 x10 ⁹	3.1 x10 ⁸	2x10 ⁸	3.9x1 0 ¹⁰ a	1.4x1 0 ⁶ a	3.1x1 0 ⁵	1x10 ⁶ a	1.1x1 0 ⁵ a	5x10 ³ b	4.5x1 0 ⁶ a	8.3x10 ⁵ b	5 x10 ⁵
	99	8.2 x10 ⁹	2.2 x10 ⁸	3.1x1 0 ⁶	3x10 ⁶ c	3x10 ⁵ ab	3.7x1 0 ⁵	3x10 ⁵ a	2.5x1 0 ³ b	4.7x1 0 ⁴ ab	1x10 ⁴ c	7.3 x10 ⁵ b	2.7 x10 ⁴
	112	7.9 x10 ⁹	2.8 x10 ⁸	3.1x1 0 ⁸	4.7x1 0 ¹⁰ d	2.1x1 0 ⁵ bc	2.6x1 0 ⁵	1x10 ⁵ a	1.3x1 0 ⁵ a	1.1x1 0 ⁴ bc	2.3x1 0 ⁵ ab	2.3 x10 ⁴ a	-

*Her bir dönemdeki popülasyon yoğunluğu 3 tekerrürün ortalamasıdır.

** Duncan testine göre her sütunda aynı harfi taşıyan uygulamalar P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

Çizelge 4.20 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin köklerinde zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişimi.

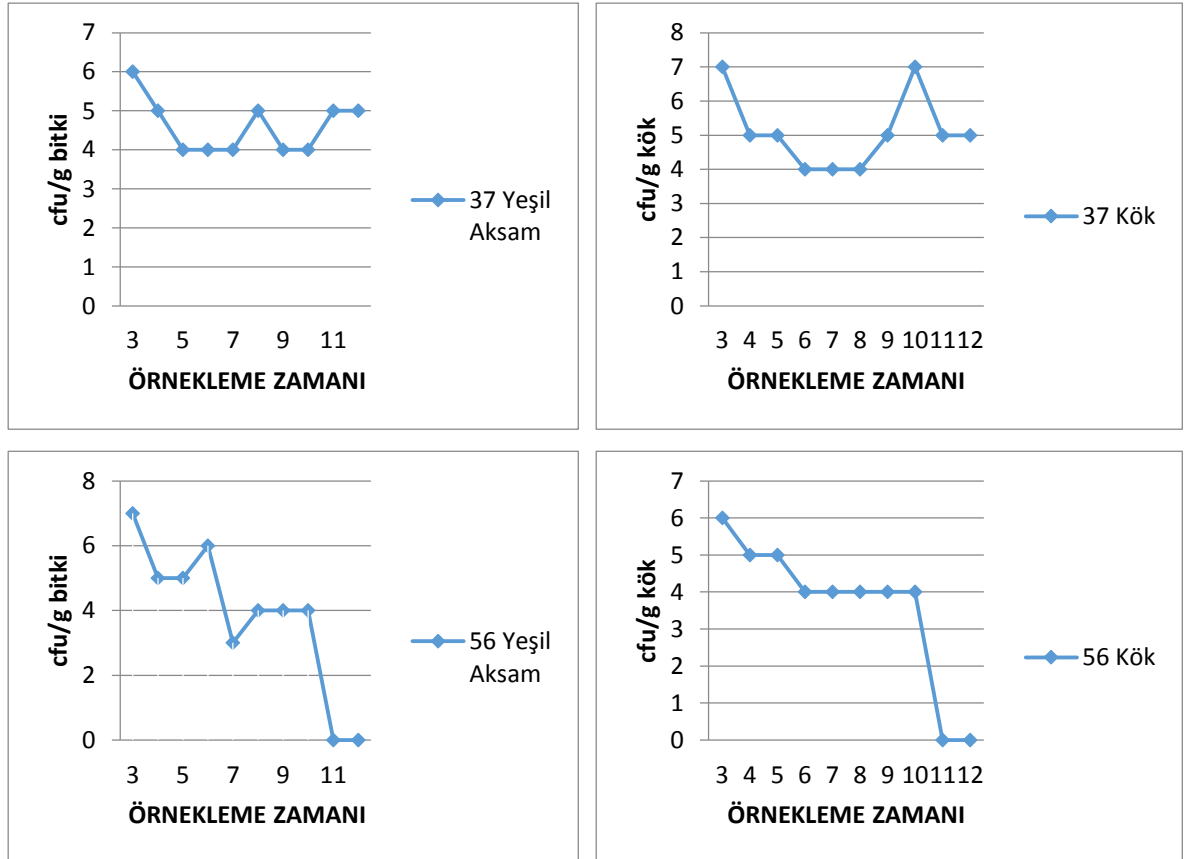
	İzolat	Örnekleme Zamanı											
		1*	2*	3*	4*	5*	6*	7*	8*	9*	10*	11*	12*
Kök (cfu/g kök)	37	9.9 $\times 10^9$	2.7 $\times 10^8$	2.7x1 0^7	1x10 ⁶ d	1x10 ⁵ b	1.1x1 0^5	1x10 ⁴	3.2x1 0^4 a	9.2x1 0^5	6.2x1 0^7	2.1 $\times 10^5$ a	6.2 $\times 10^5$
	56	8.2 $\times 10^9$	2.4 $\times 10^8$	2.8x1 0^6	3x10 ⁶ c	3x10 ⁵ a	2x10 ⁶	3.6x1 0^4	1x10 ⁴ ab	1x10 ⁴	4.3x1 0^4	-	-
	80	8.1 $\times 10^9$	2.3 $\times 10^8$	2.8x1 0^7	3.7x1 0^{10} b	3.3 $\times 10^5$ a	3x10 ⁵	1x10 ⁴	1.6x1 0^4 ab	3.8x1 0^4	3.2x1 0^4	3.3x10 ³ b	3.3x 10^4
	83	9.9 $\times 10^9$	3.1 $\times 10^8$	1.7x1 0^7	3.4x1 0^6 b	3 $\times 10^5$ a	2.3x1 0^5	3.5x1 0^7	8.3x1 0^3 b	1.5x1 0^4	5.3x1 0^4	3.7x10 ⁶ a	5.2 $\times 10^4$
	99	8.2 $\times 10^9$	2.2 $\times 10^8$	3x10 ⁸	3x10 ⁶ c	1x10 ⁵ b	1x10 ⁵	3.5x1 0^7	1x10 ⁵ ab	1x10 ⁴	1x10 ³	-	2.5 $\times 10^3$
	112	7.9 $\times 10^9$	2.8 $\times 10^8$	2.3x1 0^9	1.5x1 0^6 a	1x10 ⁵ b	1.7x1 0^6	1x10 ⁵	9.2x1 0^3 b	1.9x1 0^4	1.5x1 0^8	5.8 $\times 10^5$ a	3.4x 10^4

*Her bir dönemdeki popülasyon yoğunluğu 3 tekrerrün ortalamasıdır.

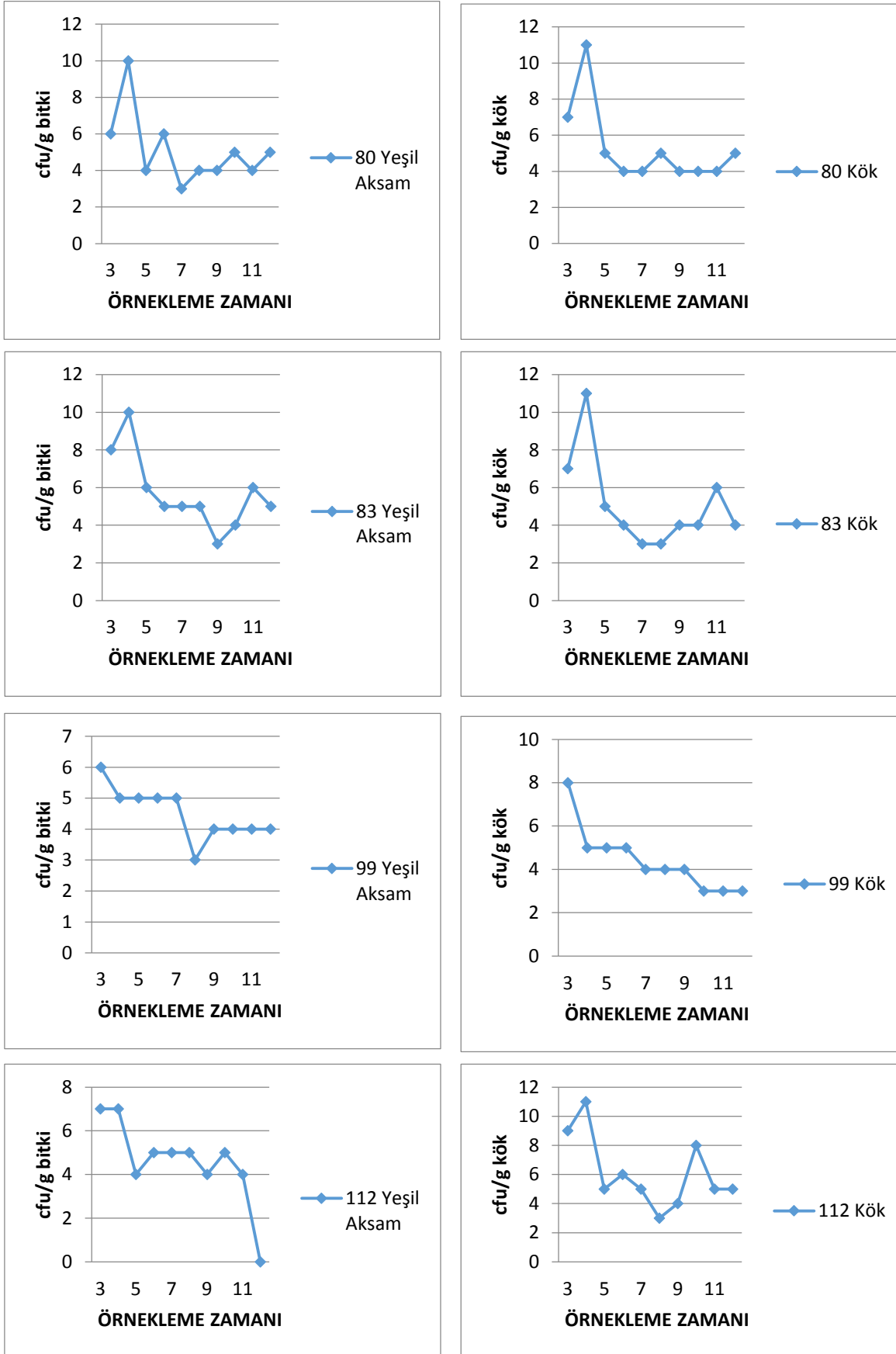
** Duncan testine göre her sütunda aynı harfi taşıyan uygulamalar P=0.05 olasılıkla birbirinden farklıdır.

EB izolatlarının tohumlara uygulanmasından 24 h sonra hıyar tohumlarına yüzey dezenfeksiyonu işlemi uygulanmış ve $2.2-3.1 \times 10^8$ cfu/g tohum düzeyinde bir bakteri popülasyonu ile endofitik bakterilerin tohum içine girdiği saptanmıştır. Kotiledon döneminde de bitki içsel dokularında $1.7 \times 10^{6-9}-4.8 \times 10^{5-11}$ cfu/ g bitki düzeyinde bir bakteri popülasyonunun saptanması, EB izolatının tohumdan yeni gelişen bitkiye doğru kolonize olduğunu göstermiştir. İkinci gerçek yaprak aşamasında EB'nin hıyar bitkisinin yeşil aksamında ve kök dokusunda popülasyonu $1 \times 10^6 - 3.7 \times 10^{10}$ cfu/g bitki düzeyini korumuştur (Çizelge 4.19).

Genel anlamda EB izolatları 62 gün süreyle hıyar köklerinde ve yeşil aksamında başarıyla kolonize olmuştur. Tohum bakterizasyonundan sonra, 62 gün süreyle 37, 80, 83 ve 99 no.lu EB'lerin hıyar bitkisinin yeşil aksam ve kök dokularındaki populasyon düzeyi 2.4×10^5 - 5×10^5 cfu/g bitki ya da kök dokusunu korurken; 56 no.lu EB uygulamasında tohum bakterizasyonundan hemen sonra 10^{6-7} cfu/g bitki ya da kök düzeyinde olan bakteri popülasyonu, 50 gün sonra 10^4 cfu/g bitki kök düzeyine düşmüş, son örnekleme periodu olan tohum bakterizasyonundan 62 gün sonra ise bitkilerin yeşil aksam ve kökte çalışma hassasiyeti sınırları içinde bakteriye rastlanamamıştır. 112 no.lu EB'nin hıyar bitkisinin yeşil aksam ve köklerindeki kolonizasyon seyrine bakıldığında; kotiledon döneminde yeşil aksam ve kökte 10^{7-8} cfu/g düzeyinde bir popülasyon saptanırken, tohum bakterizasyonundan 50 gün sonra yeşil aksamdaki popülasyon düzeyi 10^5 cfu/g bitkiye düşmüş ve 62. Günde ise hiç bakteriye rastlanılmamıştır. Ancak, 112 no.lu EB kökte son örnekleme periodu olan 62. Günde de 10^5 cfu/g kök düzeyinde saptanabilmiş, yani başarıyla kolonize olmuştur (Şekil 4.8).



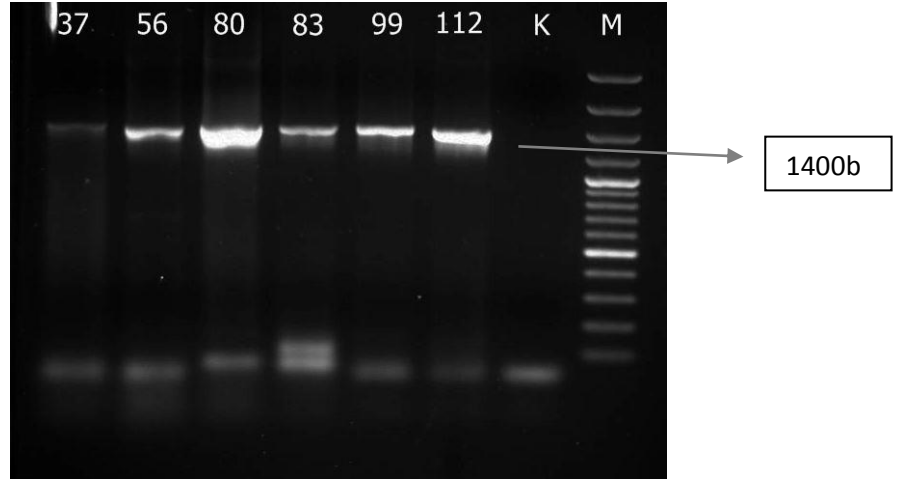
Şekil 4.8 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin kök ve yeşil aksamında zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişim



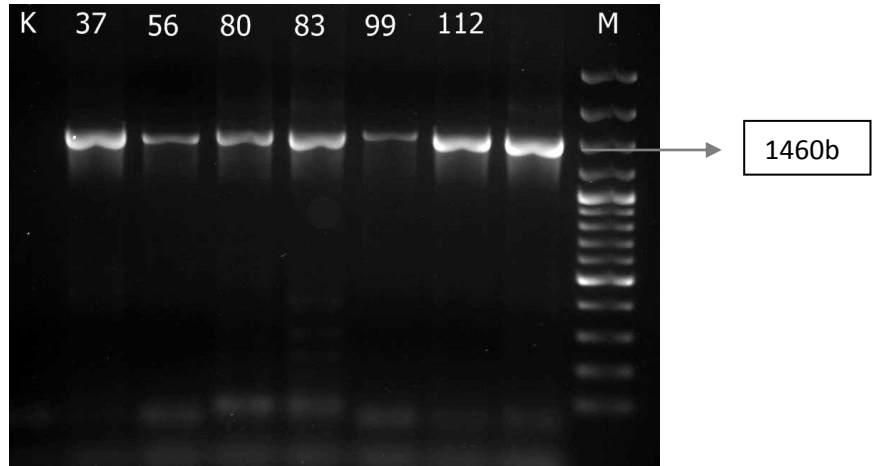
Şekil 4.8 EB izolatlarının hıyar bitkilerinin kök ve yeşil aksamında zamana bağlı olarak kolonizasyonundaki değişim (devamı)

4.3 EB'lerin Tanısı

EB 'lerin moleküler tanılama çalışmaları için 16s rRNA hedef bölgesine göre dizayn edilmiş olan Fd1/Rp2 ve 27F/1492R primer çiftleri kullanılarak PCR işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen PCR ürünleri sekans analizine gönderildikten sonra sekans sonuçları NCBI veri tabandaki bilgiler ile karşılaştırılmıştır (Şekil 4.9 ve 4.10).



Şekil 4.9 Fd1/Rp2 primerleri ile testlenen EB izolatlarının PCR elektroforez-jel görüntüsü
(M: 100 bp'lık ladder, K: Kontrol)



Şekil 4.10 27F/1492R primerleri ile testlenen EB izolatlarının PCR elektroforez-jel görüntüsü
(M: 100 bp'lık ladder, K: Kontrol)

Sonuçlara göre; 16s rRNA primerleri kullanılarak yapılan PCR işlemi sonucunda Fd1/Rp2 için 1400bp, 27F/1492R için 1460bp elde edilmiştir (Şekil 4.9 ve 4.10). 37 ve 56 no'lu izolatlar *Pseudomonas punonensis*, 80 no'lu izolat *Ochrobactrum pseudintermedium*, 83 no'lu izolat *Pantoea agglomerans*, 99 no'lu izolat *Bacillus thuringiensis* ve 112 no'lu izolat ise *Pseudomonas fluorescens* olarak belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Bitki gelişimini arttıran bakteriler (PGPB); bitki hastalıklarıyla biyolojik mücadele ve bitki gelişimini ve verimini artırma kapsamında en çok çalışılan mikroorganizma grubudur (Bashan and Holguin, 1998). PGPB'lerin en geniş çalışılan grubu, toprak içerisinde yüzeye yakın yerlerde, rhizosferde ve kök yüzeyinde kolonize olabilen bitki gelişim ve verimini teşvik eden rhizobakteriler (PGPR)'dir (Kloepper and Schroth, 1978; Kloepper et al., 1999). Kloepper et al. (1999) ve Gray and Smith (2005), PGPR'ların bazılarının kök içine girebileceğini ve endofitik popülasyon oluşturabileceğini vurgulamışlardır. İçsel kök dokularını kolonize eden endofitik bakterilerin bitki gelişimini ve bitki sağlığını arttırabileceği yapılan çalışmalarla gözlemlenmiştir (Sturz et al., 1997). Bazı çalışmalar endofitik mikroorganizmaların bitkilerin büyümesini destekleyici potansiyelinin rizosfer mikroorganizmalarından (Van Buren et al., 1993) daha yüksek olduğunu göstermiştir, ancak bitki büyümesinde bakteriyel endofitlerin rolleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır.

Birçok endofitik bakterinin bitki büyümesini teşvik ettiğini gösteren çalışmalara rastlanmaktadır (Zachow et al., 2010; Malfanova et al., 2013). Endofitlerin aracılık ettiği doğrudan bitki büyümesinin teşvik edilmesinden genelde bitkiler için hormonların üretim ve / veya düzenlenmesi ve gerekli besinlerin sağlaması sorumludur. Çeşitli bitki dokularından çok sayıda endofitik mikroorganizma bildirilmiştir ve bu endofitler farklı yararlı özelliklere sahiptirler. Endofitlerin konukçu bitki içinde bakterizasyonu bitki büyümesini teşvik eder, baklagillerde daha fazla azot fiksasyonuna yardımcı olur. Bu özellikleri, endofitlerin tarımsal ekosistemlerde başarılı olmasında etkindir.

Biyolojik mücadelenin çevre dostu ve önemli alternatif mücadele yöntemi olması, bitki hastalıklarına karşı endofitik bakterilerin kullanımını son yıllarda yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkarmış ve yapılan çalışmalarla bu görüş desteklenmiştir. Endofitik bakterilerin bitkinin kök, gövde, yaprak, çiçek, meyve ve tohumlarının içsel dokularından izole edilebildiğini belirten yayınlar ağırlıklı olarak bulunmaktadır (Lilley et al., 1996). Bu tez çalışmasında; testlenen 6 EB izolatının bitki büyüme parametrelerine ve verime etkinliği yapılan denemeler ile

değerlendirilmiştir. Sağlıklı hıyar bitkilerinin kök, gövde ve yapraklarının içsel dokularından elde edilen bu endofitik bakteri izolatlarının Gram (-), Gram (+) ve floresan *Pseudomonas* grubuna dahil olduğu saptanmıştır. Bu bulgular, genel olarak, etkili bulunan EB'lerin de bu gruplara dahil olması nedeniyle literatürle uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda 4 kültür bitkisi ve 27 çayır bitkisi toprak üstü aksamından 853 endofitik bakteri türünün izole edilebildiği bildirilmiştir (Zinniel et al., 2002). Hıyar bitkisinden izole edilen endofitik bakterilerin *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Chryseobacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia* ve *Stenotrophomonas* vb. gibi bakteriyel genuslar içerisinde yer aldığı yapılan çalışmalar ile bildirilmiştir (Mahaffee and Kloepper, 1997a, 1997b; Mc Inroy and Kloepper, 1995). Bu tez çalışmasında kullanılan bakteri izolatlarının 16s rRNA primerleri kullanılarak yapılan moleküler tanılama testleri ve sekans analizi sonuçlarına bakıldığında, bunların *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* ve *Enterobacter* (*Pantoea*) genuslarına dahil olduğu saptanmıştır. Moleküler tanılama ile elde edilen sonuçların, izole edilen bakterilerin genusları açısından önceki çalışmalar ile uyum gösterdiği görülmektedir. 16s rRNA sekans analizi sonuçlarına göre; çalışmamızda kullandığımız 37 no.lu EB izolatının *Pseudomonas punonensis*, 56 no.lu izolatın *P. punonensis*, 80 no.lu izolatın *Ochrobactrum pseudintermedium*, 83 no.lu izolatın *Pantoea agglomerans*, 99 no.lu izolatın *Bacillus thuringiensis* ve 112 no.lu izolatın ise *Pseudomonas fluorescens* olduğu kesinleşmiştir.

Endofitik bakteriler olarak *P. agglomerans* ve *P. fluorescens*'ın en bilinen ve yaygın çalışılan, birçok bitki türünde bitki ağırlığı, meyve verimi ve meyve sayısında önemli artış sağlayan organizmalar olduğu konusunda çalışmalar dikkati çekmektedir (Bertrand et al., 2001; Çakmakçı vd., 2001; De Silva et al., 2000; Gagne et al., 1993; Uthede et al., 1999). Özellikle *Pantoea* spp'ların bitki içsel dokularından sıklıkla izole edildiği, fosforu çözerek ve/veya fitohormon üretimini artırarak bitki gelişimini teşvik ettikleri bilinmektedir (Tsavkelova et al., 2007). Cezayir'de yürütülen bir çalışmada *P. agglomerans* olarak tanısı yapılan bakterinin IAA, siderofor ve fosfatı çözme aktiviteleri değerlendirilip kontrol

bitkileriyle karşılaştırıldığında maximum değerler tespit edilmiş ve çalışma sonucuna göre; *P. agglomerans*'ın kurak ve tuzlu koşullarda iyi bir bitki gelişim aktivitesi sergilediği sonucuna varılmıştır (Silini-Chérif et al., 2012). Benzer şekilde *Pseudomonas* ve *Bacillus* sp gibi endofitlerin de bitki gelişmesini arttırdığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Chen et al., 1995; Liu et al., 1995; Wei et al., 1991). Bu tez çalışmasında hıyar bitkisinde bitki gelişimi ve verim parametreleri açısından testlenen 83 no.lu *P. agglomerans* izolatının her iki üretim döneminde de negatif kontrole oranla biyokütle ve verimde artış sağlaması dikkati çekmiştir. Bu izolatın en belirgin özelliği yüksek düzeyde IAA (45 ug/ml) üretmesi olmuştur.

İspanya'da yürütülen bir çalışmada; kuraklık stresi altındaki mısır bitkisine *Bacillus thuringiensis* (BT)'in etkinliği araştırılmış ve sonuçlar söz konusu endofitik bakterinin bitki gelişimi ve verimini arttırdığını göstermiştir (Armada et al., 2015). Bu tez çalışmasında hıyar bitkisinde bitki büyüme parametreleri ve verimi açısından etkisi araştırılan 99 no.lu EB izolatının *Bacillus thuringiensis* olarak tanımlanması dikkati çekmiştir. Bu tür özellikle, entomopatojen özelliği ağır basan gerçek endofitik bakteridir. Son yıllarda endofitlerle ilgili çalışmalara bakıldığında, bu bakterinin güçlü kitinaz aktivitesi nedeniyle, bitkilerde dayanıklılığın uyarılmasında ve biyolojik savaşta etkili olduğu anlaşılmaktadır. 99 nolu bakterinin *in vitro* bitki gelişimini artırma aktivitesine bakıldığında; 6µg/ml IAA üretimi, ve zayıf siderofor salgılama aktivitesi saptanmıştır. Aynı bakteri izolatı *in vitro* ikili kültür testinde FOC''un miseliyal gelişimini yaklaşık %18 düzeyinde engellemeyi başarmıştır (Fakhraei ve Özaktan, 2015). Bu bakterinin söz konusu *in vitro* biyokontrol özelliğinin, kitinaz aktivitesinden kaynaklanabileceği düşünülebilir. 99 no.lu *B. thuringiensis* izolatı zayıf *in vitro* büyüme parametrelerine sahip olmasına karşın; *in vivo* testlerde bitki gelişimini artırma açısından başarılı bulunmasında test edilmeyen başka fitohormon ya da salgıların varlığı sorumlu olabilir. *Pueraria thunbergiana* bitkisinin yüzey sterilizasyonu yapılmış nodüllerinden izole edilen *B. thuringiensis* KR-1 izolatının, IAA ve HCN üreterek hem bitki gelişimini hem de patojenlere karşı dayanıklılığı uyardığı belirtilmiştir (Selvakumar et al. 2008). Anil and Podile (2011) ise; *B. thuringiensis*'in Harpin proteini salgılayan SFC24 no.lu straini yerfıstığı bitkisinde gelişme ve verimi artırmayı başarmıştır. Bu çalışmadaki

sonuçlar, bizim çalışmamızdaki sonuçların yorumuna katkı sağlayacak niteliktedir.

Bu tez çalışmasında, bitki gelişimi ve verim artırıcı etkisi denenilen EB izolatlarımız arasında, sekans analizi sonuçlarına göre *Ochrobactrum pseudintermedium*'in saptanmış olması çalışmanın bir başka ilginç sonucu olmuştur. Çünkü; sıklıkla karşılaşılan EB'ler arasında *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Pantoea* genuslarının olduğu düşünüldüğünde, *Ochrobactrum* genusunun bu tez çalışması sırasında bulunmuş olması bu konuda yapılan diğer çalışmalara bakmamızı sağlamış ve bu genustaki bakterilerin de biyokontrol ve bitki gelişimini artırma konusunda etkili organizmalar olduğunu değerlendirmemize neden olmuştur.

Pakistan'da yürütülen bir çalışmada şeker pancarında hastalığa sebep olan *Colletotrichum falcatum*'a karşı *O. intermedium* strain NH-5, *Pseudomonas* sp. NH-203, *Pseudomonas* sp. NH-276 ve *Stenotrophomonas maltophilia* NH-300 strainleri denenmiş ve bu bakterilerin tümünün HCN ürettiği ayrıca *Ochrobactrum intermedium* strain NH-5 ve *Pseudomonas* sp. NH-203'ün siderofor ile geniş spektrumlu bir antibiyotik ürettiği gözlemlenerek iyi birer biyolojik ajan özelliği göstermiş olup, hastalığı % 44-52 oranında azalttığı bildirilmiştir (Hassan et al., 2014). Yapılan bir diğer çalışmada ise, çay bitkisi rhizosferinden izole edilen *O. anthropi* TRS-2, *Phellinus noxius*'un neden olduğu kahverengi kök çürüklüğü hastalığını engellemek için uygulanmış, ayrıca *in vitro*'da bitki gelişimi için fosfatı çözme, siderofor üretme ve IAA aktivitesi testleri uygulanarak patojenlere karşı antifungal etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre; *Ochrobactrum anthropi* TRS-2 bitki gelişimini arttırırken aynı zamanda hastalığı da büyük ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır (Chakraborty et al., 2009). Bitki gelişimini artırma özellikleri araştırılan *Ochrobactrum* sp'nin de içinde olduğu bir dizi rhizobakter izolatı çeltik bitkisinde verim artırıcı özellikleri açısından *in vivo* koşullarda test edildiğinde besin alınımını ve taşınımını artırma yoluyla etkili olmuştur. Bu izolatların hiç birisi fosfatı parçalama ve acetylene indirgeme yeteneğine sahip değilken, bir başka bitki gelişimini teşvik etme mekanizması olan indolik bileşiklerin (IC) ve siderofor üretiminden sorumlu oldukları saptanmış ve verim artırma, besin taşıma sisteminde bu mekanizmaların

iş görebileceği öne sürülmüştür (de Souza et al., 2015). Bal et al. (2013) da, *Ochrobactrum* sp.'nin de yer aldığı bir dizi PGP bakteri straininin tuz stresi altında yetişen çeltik bitkisinde bitki gelişimini artırmasından ACC deaminase aktivitesinin sorumlu olduğunu öne sürmüştür. Bakterilerin ACC deaminase aktivitesi yaşlanma hormonu olan etilenin öncülü ACC'yi parçalayarak etilen kaynaklı stresi azaltmakta, böylece farklı stresler altındaki bitkide daha iyi bir gelişmeye neden olmaktadır (Glick, 2012). 80 no.lu *O. pseudintermedium* izolatının *in vitro* bitki gelişimini artırma parametrelerine baktığımızda, güçlü bir IAA (125 ug/ml) ve siderofor üretme kapasitesi (7mm) olduğu dikkati çekmektedir. Ancak, bu izolatın IC ve ACC deaminaz özellikleri konusunda bilginizin olmaması, verim artırıcı özelliğini yorumlamamızda bir eksiklik olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tez çalışmasında hem biyokütle hem de verim değerleri açısından en başarılı bulunan izolat 56 no.lu EB'dir. Bu izolat sonbahar ve ilkbahar üretim dönemlerinde verim ve biyokütle parametreleri açısından dikkati çeken bir performans sergilemiştir. Bu izolatın kesin tanısı sonucunda *Pseudomonas punonensis* olduğunun saptanması çalışmamızın bir başka ilginç bulgusu olmuştur. Çünkü; *P. punonensis*'in bitki gelişimini ve verimi artırıcı etkisi konusunda yeterince çalışmaya rastlanılamamıştır. Araştırdığımız makalelerde, bu bakteri türünün daha çok çevre sağlığında biyoremediasyon konusunda öne çıktığı saptanmıştır (Hemela et al., 2014). Bir başka ilginç bulgu da, 37 no.lu EB izolatının da *P. punonensis* olarak tanısı yapılmış olmasıdır. Ancak; 37 no.lu EB izolatı verim ve biyokütle parametreleri açısından 56 no.lu izolat kadar iyi bir başarı gösterememiştir. Bu da bize, aynı türe dahil olsalar da izolatların PGP özellikleri açısından salgıladıkları hormon ve sekonder metabolitler yönünden farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Her iki izolatın *in vitro* PGP özelliklerine bakıldığında; ikisinin de güçlü siderofor salgılama yeteneği olduğu (7mm), 56 no.lu izolatın orta düzeyde IAA (13 ug/ml) ürettiği, 37 no.lu izolatın ise düşük düzeyde IAA ürettiği (7 ug/ml) dikkati çekmektedir. Bu *in vitro* parametrelerle, bu izolatların bitki gelişimini artırma yeteneklerinden sorumlu olan metabolitleri yorumlamak olası değildir. Endofitik bakterilerin uygulandığı börülce bitkisinde; kök oluşumunun önemli ölçüde teşvik edildiği, gelişen köklerin sayısında ve uzunluğunda kontrollere göre artış gözlemlendiği

kaydedilmiştir. Bu durum, endobakteriyel oksinlerin kök gelişiminde önemli derecede rol sahibi olduğunu göstermektedir (Tsavkelova et al., 2007). *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* vb gibi genoslara ait bazı endofitik bakteri strainlerinin ürettiği etilen, oksin ve sitokinin gibi bitki büyüme düzenleyicileri, bitki büyüme ve gelişmesinin değişimine sebep olan faktörler olarak belirtilmiştir (Arshad and Frankenberger, 1991; Bashan and Holguin, 1997; Leifert et al., 1994). Bu konuda, sitokinin, gibberellin, ACC deaminaz, IC vb gibi diğer başka testlerin de yapılması gerekliliği anlaşılmaktadır.

Endofitik bakterilerin bitki içindeki kolonizasyonunun, genellikle, rizosferde başlayarak daha sonra rhizoplanede tutunduğu bildirilmiştir. Genellikle, rhizosfer bakterilerinin populasyon yoğunluğu yaklaşık olarak 10^7 - 10^9 cfu /g arasındayken, rhizoplaneda bitki yaş ağırlığında bu bakterilerin 10^5 - 10^7 cfu/g arasında populasyon yoğunluğu oluşturabildiği bildirilmiştir (Bais et al., 2006; Benizri et al., 2001). Lamb et al. (1996), rhizobakter *Pseudomonas aureofaciens* Ps3732RNL11 (L11) ile tohum bakterizasyonunun ardından, monokotiledon ve dikotiledon 16 bitkinin toprak üstü dokuları içerisinde, bu bakterinin kolonize olabildiğini gözlemlemiştir. Benzer şekilde; bu tez çalışmasında kullanılan EB izolatlarının tohumlara uygulanmasından 24 h sonra hıyar tohumlarına yüzey dezenfeksiyonu işlemi uygulanmış ve 10^8 cfu/g tohum düzeyinde bir bakteri populasyonu ile endofitik bakterilerin tohum içine girdiği saptanmıştır. Tohum bakterizasyonundan sonra, testlenen EB izolatlarının hıyar bitkisinin yeşil aksam ve kök dokularındaki populasyon düzeyi ise $1.1 \times 10^{3-5}$ - $6.3 \times 10^{4-5}$ cfu/g bitki ya da kök dokusu düzeyinde saptanarak çalışmalarla uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir.

Birçok bitki türü için bitki dokularında endofitik bakterilerin populasyon yoğunluğu 1×10^3 - 1×10^5 cfu/g arasında değişmiştir (Dong et al., 1994; Frommel et al., 1991; Lamb et al., 1996; Quadts-Hallmann and Kloepper, 1996). Çalışmamızda da buna paralel olarak, bitkilerin kotiledon döneminde bitki içsel dokularında $1.7 \times 10^{6-9}$ - $4.8 \times 10^{5-11}$ cfu/ g bitki düzeyinde bir bakteri populasyonunun saptanması, EB izolatının tohumdan yeni gelişen bitkiye doğru kolonize olduğunu göstermiştir. İkinci gerçek yaprak aşamasında EB'nin hıyar bitkisinin yeşil

aksamında ve kök dokusunda popülasyonu 0.3×10^4 - 3.7×10^6 cfu/g bitki düzeyini koruyarak literatürlerle uyum göstermiştir.

Endofitik bakterilerin uygulandıkları noktalardan aşağı ve yukarı doğru taşınabildiği, bitkilerin içsel dokularda kolonize olabildiği bilinmektedir. Endofitik bakterilerin rhizoplaneden kök korteksine kadar konukçularında gelişmeleri boyunca, yer değiştirme süreçlerinin aktif ve pasif mekanizmalar ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (Lugtenberg et al., 2001). Lamb et al. (1996), rhizobakter *Pseudomonas aureofaciens* Ps3732RNL11 (L11) ile tohum yüzeyinin bakterizasyonunun ardından, monokotiledon ve dikotiledon 16 bitkinin toprak üstü dokuları içerisinde, bu bakterinin kolonize olabildiğini gözlemlemiştir. Bitkinin toprak üstü dokularının kolonizasyonu, kök inokulasyonunun ardından yüzeyine bulaştırılma yapılmamış sürgünlerde de gözlemlenmiştir. Bu durum köklerden sürgünlere doğru vasküler olarak endofitik bakterilerin taşındığını göstermektedir (Pillay and Nowak, 1997). Örnekleme zamanı ve konukçunun gelişme sezonu boyunca oluşan dalgalanmalara bağlı olarak da popülasyon yoğunluğunun değişebileceği bildirilmiştir (McInroy and Kloepper, 1994, 1995). Pakistan’da yürütülen bir çalışmada; buğday ve ayçiçeği bitki köklerinde *Ochrobactrum intermedium*, *Bacillus cereus* ve *Brevibacterium* sp. türlerinin kolonizasyon potansiyelleri araştırılmıştır. Sonuç olarak; her iki bitkide de *O. intermedium* en iyi kolonize olan bakteri olarak tespit edilmiştir (Faisal and Hasnain, 2006). Bu tez çalışmasında kullanılan 80 no.lu *O. pseudintermedium* ve 83 no.lu *P. agglomerans* izolatları da 62 günlük yetiştirme döneminde, her örnekleme periodunda kök ve yeşil aksamda yaklaşık 10^5 cfu/g bitki düzeyini koruyarak en iyi kolonize olabilen EB’ler olmuştur. Bu sonuçlar, literatür verileriyle de uyumlu bulunmuştur. Ancak; bitki gelişimini ve verimi artırma açısından en başarılı izolatımız olan 56 no.lu *P. punonensis* izolatı ise bitki içinde 10^4 cfu/g düzeyinde bir kolonizasyon düzeyine sahipken, örnekleme döneminin sonlarında kök ve yeşil aksamdan izole edilememiştir. Bir başka *P. punonensis* izolatı olan 37 no.lu EB ise, örnekleme dönemleri boyunca kök ve yeşil aksamda 10^{4-6} cfu/g bitki düzeyini korumuştur. Bu sonuçlar, kolonizasyon başarısında bakterinin türünden çok izolatların konukçuya ve ekolojiye uyum sağlamalarının daha önemli olabileceğini bize göstermiştir. *In vivo* koşullar altında endofitik bakterilerin kolonizasyonunu, sıcaklık, nem, inokulum yoğunluğu, konukçu

genotipi gibi faktörlerin etkilediği bildirilmiştir (Pillay and Nowak, 1997). Chen et al., (1995); bitkilerdeki endofit popülasyonundaki dalgalanmaların bitkinin yaşına ve çevresel faktörlere bağlı olabileceğini, bitki dokusundaki popülasyon yoğunluğunun yaşlanmayla birlikte azalma göstereceğini belirtmiştir. Bizim kolonizasyon çalışmamız bitki büyüme odasında homojen çevresel faktörlerde yürütüldüğü için endofit popülasyonundaki dalgalanmalardan bitki fizyolojisi ve yaşının sorumlu olabileceği düşünülebilir.

Farklı bitki dokularında endofit bakterilerin popülasyonlarının 10^3 - 10^6 cfu/g ve ender olarak 10^7 cfu/g ile sınırlı olduğu bildirilmiştir (de Wegger et al., 1995). Başlangıçtaki inokulum miktarından bağımsız olarak, endofitik popülasyonlar bitki dokularına bağlı olarak optimal büyüklüğe ulaşma eğilimlidir. Endofitik *Pseudomonas sp.* ile inokule edilmiş olan patateslerde, kök popülasyonunun final popülasyon yoğunluğu 1×10^6 cfu/cm olup başlangıç popülasyonuna göre artış gösterirken, gövde final popülasyon yoğunluğu, başlangıç popülasyonu olan 3.3×10^5 cfu/cm'den 1.9×10^3 cfu/cm popülasyon yoğunluğuna doğru düşüş göstermiştir (Frommel et al., 1991). Bu tez çalışmasında kök ve yeşil aksamdaki kolonizasyon ve popülasyon değişimi izlenen EB izolatlarından bazıları yeşil aksama oranla kökte daha iyi kolonize olmuştur. Örneğin; 112 no.lu *P. fluorescens* izolatının yeşil aksamdaki popülasyon yoğunluğu 10^5 cfu/g bitki'den 10^0 cfu/g bitki'ye düşerken, kökteki popülasyonu 62 gün süreyle, dalgalanmalarla birlikte, 10^5 cfu/g bitki düzeyini korumuştur. Bu sonuçların aksine, 99 no.lu *B. thuringiensis* izolatı ise yeşil aksamda kök dokularına oranla daha iyi kolonize olmuştur. Fisher et al, (1992) mısır bitkilerinde endofitik bakterilerin bitkilerin toprağa yakın olan bölümlerinde üst kısımlarına oranla daha iyi kolonize olduğunu bildirmişlerdir. Genel olarak, kökboğazı ve kök dokuları, endofit bakterilerin sayı ve biyoçeşitlilik açısından en zengin olduğu alanlardır.

EB izolatlarının hıyar bitkisinin içsel dokularında kolonizasyonu ile verim arasında bir ilişkinin varlığını araştırmak amacıyla verim ve kolonizasyon verileri karşılaştırıldığında; verim açısından en dikkat çekici EB uygulamasının 56 no.lu *P. pununensis* izolatı olduğu anlaşılmaktadır. Bu izolatın bitki içindeki kolonizasyon ve popülasyon değişimine bakıldığında, bitki içinde (kök ve yeşil aksam) 10^4 cfu/g bitki düzeyinde bir kolonizasyon düzeyine sahipken, örnekleme

döneminin sonlarında kök ve yeşil aksamdaki popülasyonu giderek düşmüş ve son örnekleme döneminde yeniden izole edilememiştir. Bu sonuçlar, bakterinin verim açısından başarılı olmasında çok yüksek bir kolonizasyon düzeyinde olmasından çok, konukçu bitkide tetiklediği gen bölgelerinin aktivasyonunun sorumlu olabileceğini düşündürmektedir. Üstelik, bitki içindeki kolonizasyon ve popülasyon yoğunluklarına bakıldığında; Raaijmakers et al., (1995) tarafından önerilen eşik değer olan 10^5 cfu/g bitki değerine genel olarak ulaştıkları dikkati çekmektedir. Bu eşik değer özellikle ISR açısından önem taşımaktadır. Konukçu x patojen x endofitik mikroroganizma etkileşiminin test edildiği çalışmalarda bu durum konukçu bitkide sistemik dayanıklılıktan sorumlu gen ekspresyonlarının aktive edilmesi olarak daha iyi çalışılmış ve yorumlanmıştır.

Bakterilerin vasküler dokuların kolonizasyonu ile ilgili olarak, en önemli tartışma konusu endofitik bakterilerin vasküler sistemi bitki içerisinde taşınmaları ve çoğalmaları için kullanmalarına rağmen, bitkilerde patojen olan ve iletim sistemiyle taşınıp orada çoğalan bakteriler gibi solgunluk ve hastalığa neden olmamalarıdır. Bunun ana nedeninin, endofitik bakterilerin, bitki patojeni bakteriler gibi ksilem kanallarını tıkayacak yüksek bir popülasyona asla ulaşmamaları olabilir. İletim sistemi içinde endofitik bakterilerin nüfusu nispeten düşüktür, bu nedenle yararlı endofitik bakteriler vasküler dokuları daha az kolonize etmekte ve daha az yer kaplamaktadır.

Bu tez çalışmasının en önemli amacı; *in vitro* testler doğrultusunda seçilmiş EB izolatlarının hıyar bitkisinde bitki büyüme parametrelerine ve verime olan etkisini araştırmak ve *in vitro* verilerle *in vivo* testler arasında bir korelasyonun varlığını araştırmaktır. Tez çalışmasından elde edilen veriler bu yönüyle irdelendiğinde; *in vitro* test parametreleri doğrultusunda seçilen EB izolatları hıyarda, topraksız tarım sisteminde sonbahar üretim sezonunda toplam meyve verimini %5-28 oranında artırarak negatif kontrol uygulamasından istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur. Ancak; ilkbahar üretim sezonunda EB uygulamaları negatif kontrol uygulamasından istatistiksel açıdan farklı bulunmamıştır. Buradaki en büyük etken, testlenen organizmaların ve bitkinin de canlı sistemler olması ve ekolojik koşullardaki değişikliklerden etkilenmesi olabilir. Bitki büyüme denemelerinde dikkati çeken bir diğer olgu da; bitki biyokütle (yaş ve kuru

ağırlık) değerleri ile verim arasında bir korelasyonun varlığı araştırıldığında, sonbahar döneminde EB uygulamaları sadece kök yaş ağırlığını arttırırken kök ve yeşil aksam kuru ağırlığında önemli farkın saptanamaması, ancak, verimde istatistiksel anlamda artışların bulunmasıdır. Ayrıca tez çalışması sırasında yapılan diğer bitki büyüme parametreleri olan meyve kalite analizi (renk, meyve boyu/çapı, TSÇKM) vb gibi testler EB'lerin bitki büyüme ve gelişmesine etkilerini değerlendirme konusunda bizim için kayda değer bir sonuç vermemiştir. Bu tür çalışmaların ulaşmak istediği ana hedef ve pratiğe aktarılacak istenen sonuç; bitki verimini arttırmaktır. Bu nedenle, bu tür çalışmalarda verim artışının en önemli parametre olarak dikkate alınması yararlı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Elde edilen bulgular bütünüyle değerlendirildiğinde; çalışmada kullanılan EB'lerin kontrollü koşullar altında değerlendirilerek bitki gelişimi ve verimini arttırdığı sonucuna varılmış olup, söz konusu EB'lerin pratiğe aktarılması halinde de bu etkinin serada hıyar yetiştiriciliğinde olumlu katkılar sağlayabileceği düşünülmektedir.

EB'ler bitkilere toksik etki göstermediği gibi yeraltı kaynaklarını da kirletmeyip, toprak asitliğini artırmayıp, doğadan izole edilip tekrar doğaya uygulandıklarından sentetik kimyasallardan daha ekonomik ve çevre dostu organizmalardır. Bu tez çalışmasında kullanılan ve verim açısından başarılı bulunan, özellikle, 56 no.lu EB izolatlarının *P. punonensis* olarak tanısı yapılmıştır. *P. punonensis* çevre sağlığında biyoremediasyon konusunda öne çıkan yararlı bir organizmadır. Bu da tez çalışmasının özgün bir sonucu olarak dikkate alınabilir.

Bunun yanısıra, 37 no.lu *P. punonensis* izolatı verim ve bitki büyüme açısından 56 no.lu *P. punonensis* izolatı kadar iyi bir başarı gösterememiştir. Bu da bize, aynı türe dahil olsalar da izolatların PGP özellikleri açısından salgıladıkları hormon ve sekonder metabolitler yönünden farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle, bitki gelişimini artırma yeteneklerinden sorumlu olan IAA, siderofor, HCN üretimi ve fosfatı parçalama gibi testlerin yanı sıra; sitokinin, gibberellin, ACC deaminaz, IC vb gibi diğer başka testlerin de yapılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.

80 no.lu EB izolatı *O. pseudintermedium* ve 83 no.lu EB izolatı *Pantoea agglomerans*'ın da uygun olarak kullanılmaları halinde bitki gelişimini ve verimini arttırabilecekleri, pratikte kullanım için önerilebileceği düşünülmektedir. Ancak; daha kapsamlı testler yapılmasında yarar vardır.

EB'lerin özellikle erken dönemde bitki gelişmesini teşvik edici oldukları bildirilmektedir. Fakat, bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre seçilen endofitik bakterilerin bitki gelişimini arttırıcı etkilerinin sadece erken dönemde olmayıp yetiştirme dönemi boyunca sürdüğü güz ve bahar dönemi denemeleri sonuçlarıyla ortaya koymuştur.

Yapılan bazı araştırmalarda, EB'lerin, bazı bileşiklerin parçalanmasını sağlamalarının ardından daha hızlı bir şekilde ksileme girebildiği ve bu bileşiklerle bulaşık topraklarda bitki yetiştiriciliği süresince kök ile ilişkili bakterilerin oynadığı rol tam olarak bilinmemesine rağmen, bitki bakteri kombinasyonları rhizosferdeki atıkların parçalanmasını hızlandırabilmektedir. Bu durum özellikle toprak yorgunluğunun görüldüğü bölgelerde, EB uygulamalarının toprağın bitkiler tarafından kullanılan yüzey tabakasının yenilenmesinde etkili olabileceği ve bitkilerin mineralleri topraktan kolayca alabilmesine olanak sağlayarak bitki gelişimini arttırılabileceği görülmektedir.

EB'ler, uçucu maddelerin sentezlemesi, osmotik basıncın ayarlanması, stomaların düzenlenmesi, kök morfolojisinin değişimi, bitkinin mineral alımını kolaylaştırılması, azot birikimi ve metabolizmasının ayarlanmasını içeren bir dizi mekanizmayı kullanarak da bitki gelişimini arttırabilmektedir. Dolayısıyla, mikrobiyal kültürdeki yeni metodların geliştirilmesi, bitki ve endofitik bakteriler arasındaki yararlı ilişkinin daha dengeli ve sürdürülebilir bir şekilde gerçekteşmesini sağlayacağı düşünölmektedir.

Ayrıca, EB izolatlarının, bitki dokuları içerisinde kolonize olabilmek yeteneğine sahip olmaları, bitkilerde epifitik olarak kolonize olabilen bakterilere göre sıcaklık, osmotik potansiyel ve ultraviyole radyasyon gibi bakterilerin uzun süre hayatta kalmasını sınırlayan ekstrem çevre koşullarından korunmalarına da olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda kontrollü ortamlarda etkin bulunan bu mikroorganizmaların tarla koşullarına taşınması ve adapte edilebilmesi için çalışmaların arttırılması gerekmektedir.

EB uygulamaları; tuz, kuraklık gibi bitki için stresli çevre koşullarına toleransı arttırarak gelişim ve verimi olumlu etkileyebilir aynı zamanda bitkiyi patojen saldırılarına karşı etkin bir şekilde koruyabilir. Bu tez çalışmasında bitki gelişimi ve verimi artırma açısından başarılı bulunan EB izolatlarının farklı konukçu x patojen sistemlerinde de denenerek bityokontrol özelliklerinin saptanmasına gereksinim vardır. Böylece; bu bakteriler biyopreparat ve biyogübre olarak çok yönlü bir kullanıma sahip olabilirler.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Akat, S. ve Özaktan, H.,** 2011, Domates Bakteriyel Kanser ve Solgunluk Hastalığıyla [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis et. al] Biyolojik Mücadelede Bakteriyel Antagonistlerin Etkinliğinin Araştırılması. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans.76 s.
- Akbaba, M. ve Özaktan, H.,** 2014, Bitki Gelişimini Artıran Bakteriyel Endofitlerin Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (*Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*)önlenmesinde Kullanılma Olanakları. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans tezi.119 s.
- Akköprü, A. ve Özaktan, H.,** 2012, Hıyar Bakteriyel Köşeli Yaprak Leke Hastalığının (*Pseudomonas Syringae* pv. *lachrymans*) Bazı Kök Bakterileriyle Biyolojik Savaşımı Üzerinde Araştırmalar. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Doktora tezi.136 s.
- Aktaş, S. ve Kotan, R.,** 2015, Domates Öz Nekrozuna Neden Olan Etmenlere Karşı PGPR ve Biyoajan Bakterileri Kullanılarak Kontrollü Koşullarda Biyolojik Mücadele İmkânlarının Araştırılması. Erzurum: Atatürk Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans tezi.61 s.
- Anil, K. and Podile, A. R.,** 2011, Harpin_{Pss} –mediaten enhancement in growth and biologicalcontrol of late leaf spot in groundnut by a chlorothalonil-tolerant *Bacillus thrungiensis* SFC24. Microbiological Research 167 (2012) 194-198.
- Anderson, A.J., Habibzadegah-Tari, P. and Tepper, C.S.,** 1988, Molecular studies on the role of a root surface agglutinin in adherence and colonization by *Pseudomonas putida*. *Applied and Environmental Microbiology* 54, 375-380.
- Anonymus,** 2010, INRA-INH-Université d'Angers'si UMR-PaVe, Fransa, laboratuar protokollerinden.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Armada, E., Azcon, R., Lopez-Castillo, O., Calvo-Polanco, M. and Ruiz-Lozano, J.,** 2015, Autochthonous arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus thrungiensis* from a degraded Mediterranean area can be used to improve physiological traits and performance of a plant of agronomic interest under drought conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, Volume 90, May 2015, 64-74 pp.
- Arıkan, Ş. ve Pırlak, L.,** 2012, Bitki Büyümesini Artırıcı Rizobakterilerin (BBAR) Vişnede Bitki Gelişimi, Verim ve Meyve Kalitesine Etkileri. Konya: Selçuk Üniv. Fen Bil. Enst. Yüksek Lisans.46 s.
- Arshad, M. and Frankenberger, W.T.,** 1991, Microbial production of plant hormones. In: *The Rhizosphere and Plant Growth*. pp. 327–334. Keister, P.B. and Cregan, P.B., Eds., *Kluwer Academic Publishers*, Dordrecht, the Netherlands.
- Avis, T. J., Gravel, V., Antoun, H. and Tweddell, R. J.,** 2008, Multifaceted beneficial effects of rhizosphere microorganisms on plant health and productivity. *Soil. Biol. Biochem.* 40,1733- 1740.
- Bacon, C. W. and White, J. F.,** 2000, *Microbial endophytes*. New York: Marcel Dekker Inc.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S. and Vivanco, J.M.,** 2006, The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57, 233-266.
- Bakker, A.W. and Schippers, P.** 1987, Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas* spp.-mediated plant growth stimulation. *Soil Biol. Biochem.* 19:451–457.
- Bal, H.B, Nayak L., Das S. and Adhya T. K.,** 2013, Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil* 366:93–105.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Barbieri, P., Zannelli, T., Galli, E., and Zanetti, G.** 1986, Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.*36:87–90.
- Barraquio, W. L., Revilla, L. and Ladha, J. K.,** 1997, Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. *Plant Soil.*194:15–24.
- Bashan, Y. and Holguin, G.,** 1997, *Azospirillum*-plant relationships: environmental and physiological advances (1990–1996). *Can. J. Microbiol.* 43:103–121.
- Bashan, Y., and G. Holguin.,** 1998, Proposal for the division of plant growth promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB. *Soil Biol. Biochem.* 30:1225–1228.
- Beauchamp, C. J.** 1993, Mode of action of plant growthpromoting rhizobacteria and their potential use as biological control agents. *Phytoprotection*71:19–27.
- Bell, C.R., G.A. Dickie., W.L.G. Harvey., and J.W.Y.F. Chan.,** 1995, Endophytic bacteria in grapevine. *Can. J. Microbiol.*41:46–53.
- Bertrand, H., Nalin, R., Bally, R. and Cleyet- Marel, J.C.,** 2001, Isolation and identification of the most efficient plant growth-promoting bacteria associated with canola (*Brassica napus*) *Biol Fertil Soil* 33, 152-156.
- Benizri, E., Baudoin, E. and Guckert, A.,** 2001, Root colonization by inoculated plant growth rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology* 11, 557-574.
- Bhattacharjee, R., Singh, A. and Mukhopadhyay, S.,** 2008, Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for nonlegumes:prospects and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80: 199-209
- Blumer, C., and D. Haas.,** 2000, Mechanism, regulation and ecological role of bacterial cyanide biosynthesis.*Arch. Microbiol.* 173:170-177.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Boddey, R. M., de Oliveira, O. C., Urquiaga, S., Reis, V. M., de Oliveira, F. L., Baldani, V. L. D., and Döbereiner, J.,** 1995, Biological nitrogen fixation associated with sugarcane and rice: contributions and prospects for improvement. *Plant Soil*. 174:195–209.
- Brown, M.,** 1974, Seed and root bacterization. *Annu. Rev. Phytopathol.* 12: 181–197.
- Chakraborty, U., Chakraborty B.N., Basnet A. and Chakraborty P.,** 2009, Evaluation of *Ochrobactrum antropi* TRS-2 and its talc based formulation for enhancement of growth of tea plants and management of Brown root disease. *Journal of Applied Microbiology* 107 (2009) 625-634.
- Camacho Carvajal, M.M., Wijfjes, A.H.M., Mulders, I.H.M., Lugtenberg, B.J.J. and Bloemberg, G.V.,** 2002, Characterization of NADH dehydrogenases of *Pseudomonas fluorescens* WCS365 and their role in competitive root colonization. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15, 662-671.
- Cavalcante, V.A. and Döbereiner, J.,** 1988, A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. *Plant and Soil* 108, 23-31.
- Chen, C., Bauske, E. M., Musson, G., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J. W.,** 1995, Biological control of Fusarium wilt on cotton by use of endophytic bacteria. *Biol. Control* 5:83–91.
- Chen, Y., R. Mei, S. Lu, L. Liu, and J. W. Kloepper.,** 1996, The use of Yield Increasing Bacteria (YIB) as Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Chinese Agriculture. *Management of soil borne diseases*, R. S. Utkhede and V. K. Gupta ed. Kalyani publishers, Ludhiana. New delhi.
- Cho, S.J., Lim, W.J, Hong S.Y., Park S.R. and Yun H.D.,** 2002, Endophytic colonization of balloon flower by antifungal strain *Bacillus* sp. CY22. *Biosci Biotech Biochem* 67: 2132–2138

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Cocking, E. C., Al-Mallah, M. K., Benson, E. and Davey, M. R.,** 1990, Nodulation of non- legumes by rhizobia. In: Nitrogen Fixation: Achievements and Objectives, Gresshoff, P. M., Roth, E. C., Stacey, G., and Newton, W. E., Eds., Chapman and Hall, New York, USA. 813–823 pp.
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Cle'ment, C. and Ait Barka, E.,** 2005, Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a plant growth promoting bacterium, *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1685–1693
- Compant, S., Clement, C. and Sessitsch, A.,** 2010, Plant growth - promoting bacteria in the rhizo and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* 42: 669-678.
- Costa, J. M. and Loper, J. E.,** 1994, Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. *Mol Plant Microbe Interact* 7: 440–448.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Şahin, F.,** 2001, Effect of N₂ fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 164, 527-531.
- Davison, J.,** 1988, Plant beneficial bacteria. *Bio-Technology* 6: 282–286.
- De Silva, A., Patterson, K., Rothrock, C. and Moore, J.,** 2000, Growth promoting of highbush blueberry by fungal and bacterial inoculants *Hortscience* 35 (7): 1228-1230 DEC 2000.
- De Souza, R., Meyer, J., Schoenfeld, R., Passaglia, L. and Costa, P.,** 2015, Characterization of plant growth promoting bacteria associated with rice cropped in iron-stressed soils. *Ann Microbiol* (2015) 65 : 951-964.
- de Mot, R., Proost, P., van Damme, J. and Vander Leyden, J.,** 1992, Homology of the root adhesin of *Pseudomonas fluorescens* OE 28.3 with porin F of *P. aeruginosa* and *P. syringae*. *Molecular and General Genetics* 231, 489-493.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- de Weert, S., Vermeiren, H., Mulders, I.H.M., Kuiper, I., Hendrickx, N., Bloemberg, G.V., Vanderleyden, J., De Mot, R. and Lugtenberg, B.J.J.,** 2002, Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 15, 1173-1180.
- de Weger, L.A., A.J. van der Bij, L.C. Dekkers, M. Simons, C.A. Wijffelman, and B.J.J. Lugtenberg.** 1995, Colonization of the rhizosphere of crop plants by plant-beneficial pseudomonads. *FEMS Microbiol. Ecol.* 17: 221–228.
- DéFago, G., Berling, C. H., Burger, U., Haas, D., Kahr, G., Keel, C., Voisard, C., Wirthner, P., and Wüthrich, B.,** 1990, Suppression of black rot of tobacco and other root diseases by strains of *Pseudomonas fluorescens*: potential applications and mechanisms. In: *Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens*. Hornby, D., Ed., CAB International, Wallingford, Oxon, UK, 93–108 pp.
- Dekkers, L. C., van der Bij, A. J., Mulders, I. H. M., Phoelich, C. C., Wentwoord, R. A. R., Glandorf, D. C. M., Wijffelman, C. A. and Lugtenberg, B. J. J.,** 1998, Role of the Oantigen of lipopolysaccharide, and possible roles of growth rate and of NADH: ubiquinone oxidoreductase (nuo) in competitive tomato root-tip colonization by *Pseudomonas fluorescens* WCS365. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11, 763-771.
- Di Fiori, S. and Del Gallo, M.,** 1995, Endophytic bacteria: their possible role in the host plant. In: *Azospirillum VI and Related Microorganisms*. pp. . Fendrik, I., Del Gallo, M., Vanderleyden, J., and de Zamaroczy, M., Eds., *Springer-Verlag*, Berlin.
- di Vestea, A.,** 1888, De l'absence des microbes dans les tissus végétaux. *Annales del'Institut Pasteur*, 670-671.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Dias A, Costa F, Andreote F, Lacava P, Teixeira M, Assumpcao L, et al.** 2009, Isolation of micropropagated strawberry endophytic bacteria and assessment of their potential for plant growth promotion. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 25: 189-195.
- Diem, G., Rougier, M., Hamad-Fares, I., Balandreau, J. P. and Dommergues, Y. R.,** 1978, Colonization of rice roots by a diazotroph bacteria. *Ecol. Bull.* 26: 305–311.
- Dong, Z., Canny, M.J., Mc Cully, M.E., Roboredo, M.R., Cabadilla, C.F., Ortega, E., and Rodés, R.,** 1994, A nitrogen fixing endophyte of sugarcane stems. *Plant Physiol.* 105:1139–1147.
- Dörr, J., Hurek, T. and Reinhold-Hurek, B.,** 1998, Type IV pili are involved in plante microbe and fungusemicrobe interactions. *Molecular Microbiology* 30,7-17.
- Emmert. E. A. B. and Handelsman, J.O.,** 1999, Biocontrol of plant disease: a (Gram+) positive perspective, *FEMS Microbiology Letters*, vol. 171, no. 1, 1–9 pp.
- Faisal, M. and Hasnain, S.,** 2006, Colonization Potential of *Ochrobactrum intermedium*, *Bacillus cereus* and *Brevibacterium* sp. On *Triticum aestivum* and *Helianthus annuus* Roots. *Journal of Plant Sciences* , 1: 36-41.
- Fakhraei, D. ve Özaktan, H.,** 2015, Endofitik Bakterilerin Hıyar Bitkilerinde Dayanıklılığı Uyarma Yoluyla *Fusarium* Solgunluğuna Etkililiğinin Araştırılması. İzmir: Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Doktora tezi. 148 s.
- Food and Agriculture Organization,** 2013, The Statistics Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, <http://faostat3.fao.org/home/index.html#VISUALIZE> (Erişim tarihi: 2 Mayıs 2015)

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fernando, W.G.D., Nakkerean, S. and Zhang, Y.** 2006, Biosynthesis of Antibiotics by PGPR and its Relation in Biocontrol of Plant Diseases. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. A. Zaki & Siddiqui (Eds.). (pp. 67-109). Springer, The Netherlands.
- Fisher, P. J., Petrini, O., and Lappin Scott, H. M.,** 1992, The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.). *New Phytol.* 122:299–305.
- Fredrickson, J. K. and Elliott, L. F.** 1985, Effects on winter wheat seedling growth by toxin producing rhizobacteria. *Plant Soil.* 83: 399–409.
- Frommel, M. I., Nowak, J., and Lazarovits, G.,** 1991, Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* grown potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp. *Plant Physiol.* 96: 928–936.
- Frommel, M. I., Nowak, J., and Lazarovits, G.,** 1993, Treatment of potato tubers with a growth promoting *Pseudomonas* sp.: plant growth responses and bacterium distribution in the rhizosphere. *Plant Soil.* 150: 51–60.
- Gagné, S., Richard, C., and Antoun, H.,** 1989, Pouvoir pathogène des bactéries endoracinaires de la luzerne. *Can J. Plant Pathol.* 11: 22–27.
- Gagné, S., Debhi, L., Lequere, D., Cayer, F., Marin, J.L., Lemay, R. and Fournier, N.,** 1993,. Inoculated into the pear-based growing media, *Soll Biol Biochem*, 25, 269-272.
- Galippe, V.,** 1887, Note sur la présence de micro-organismes dans les tissus végétaux. *Comptes Rendus Hebdomadaires de la Société de Biologie*, Paris, 410-416 pp.
- Glick, B.R, Jacobson, C.B., Schwarze, M.K., and Pasternak, J.J.** 1994, 1–Aminocyclopropane-1–carboxylic acid deaminase mutants of the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12–2 do not stimulate canola root elongation. *Can. J. Microbiol.* 40: 911–915.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Glick, B.R.**, 1995, The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41: 109–117.
- Glick, B.R, Liu, C., Ghosh, S., and Dumbroff, E.B.**, 1997, Early development of canola seedlings in the presence of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR 12–2. *Soil Biol. Biochem.* 29: 1233–1239
- Glick, B.R., Penrose, D.M., and Li, J.**, 1998, A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* 190:63–68.
- Glick, B.**, 2012, Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica* 2012:1–15. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scient.2012.01.001>. Glick B (2012) Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications.
- Gray, E. J., and D. L. Smith.**, 2005, Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. *Soil Biol. Biochem.* 37: 395–412.
- Gregory, P.J.**, 2006, *Plant Roots: Growth, Activity and Interaction with Soils.* Blackwell Publishing, Oxford, 318 p.
- Gül, A, Tüzel, İ. H., Okur, B., Tuncay, Ö., Aykut, N. ve Engindeniz, S.**, 2000, Serada Topraksız Tarım Tekniği ile Hıyar Yetiştiriciliği. Tübitak, TARP yayınları. İzmir. 51p.
- Gül, A., Özaktan, H., Tüzel, Y. and Öztan Kıdoğlu, F.**, 2008, Önemli sera sebze türlerinde bazı kök bakterilerinin bitki gelişimi, verim ve besin maddesi alınımına etkileri, İzmir: TÜBİTAK, 105 O 571 nolu proje kesin raporu.
- Hall, J.A., Peirson, D., Ghosh, S. and Glick, B.R.**, 1996, Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12–2. *Isr. J. Plant Sci.* 44: 37–42.
- Hallman, J., A. Quadts-Hallman, W., Mahafee, F. and Kloepper, J. W.**, 1997, Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43: 895–914.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Hallmann, J. et al.** 1997, Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43, 895–914.
- Hallmann, J., Quadt H.A., Rodrguez, R. and Kloepper J. W.,** 1998, Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. *Soil Biol Biochem* 30: 925–937.
- Hallmann, J.,** 2001, Plant interactions with endophytic bacteria. In: Jeger, M.J., Spence, N.J. (Eds.), *Biotic Interactions in Plante Pathogen Associations*. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom, pp. 87-119.
- Hardoim, P., van Overbeek, L. and van Elsas J.,** 2008, Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends Microbiol* 16: 463-471.
- Hardoim, P.,** 2011, Bacterial endophytes of rice – their diversity, characteristics and perspectives. PhD thesis book. Ridderkerk. Netherlands. Chapter 1. 10-38 pp.
- Hassan, M. N., Afghan, S., Hassan, Z. and Hafeez, Y. F.,** 2014, Biopesticide activity of sugarcane associated rhizobacteria: *Ochrobactrum intermedeium* strain NH-5 and *Stenotrophomonas maltophilia* strain NH-300 against red rot under field conditions. *Phytopathologia Medditerranea* (2014) 53, 2, 229-239.
- Hemela, L., Zhang, D. and Margesin, R.,** 2014, Cold-active antibacterial and antifungal activities and antibiotic resistance of bacteria isolated from an alpine hydrocarbon-contaminated industrial site. *Research in Microbiology* July–August 2014, 447–456 pp.
- Henning, K. and Villforth, F.,** 1940, Experimentelle untersuchungen zur frage der bacteriesymbiose in ho`heren pflanzen und ihrebeeinflussung durch ‘Leitemente’. *Biochem. Zeitschr.* 305, 299–309.
- Holland, M. A.** 1997, Occam’s razor applied to hormonology: are cytokinnins produced by plants? *Plant Physiol.* 115:865–868.
- Hollis, J.P.,** 1951, Bacteria in healthy potato tissue. *Phytopathology* 41:350–366.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Höflich, G., Wiehe, W. and Kühn, G.** 1994, Plant growth stimulation by inoculation with symbiotic and associative rhizosphere mechanisms. *Experientia* 50:897–905.
- Hurek, T., Reihold-Hurek, B., van Montagu, M., and Kellenberger, E.,** 1991, Infection of intact roots of Kallar grass and rice seedlings by *Azoarcus*. *Dev. Plant Soil Sci.* 48: 235–242.
- Iniguez, A.L., Dong, Y., Carter, H.D., Ahmer, B.M.M., Stone, J.M. and Triplett, E.W.,** 2005, Regulation of enteric endophytic bacterial colonization by plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 169-178.
- Jacobson, C. B., Pasternak, J. J., and Glick, B. R.,** 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.
- James, K. and Olivares, F.L.,** 1997, Infection and colonization of sugar cane and other Gramineous plants by endophytic diazotrophs. *Crit. Rev. Plant Sci.* 17:77–119.
- James E. K., Gyaneshwar, P., Mathan, N., Barraquio, W. L., Reddy P. M., Iannetta, P. P., Olivares F. L. and Ladha J. K.,** 2002, Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Mol Plant Microbe Interact* 15: 894–906.
- Jetiyanon, K. and Kloepper J.W.,** 2002, Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biol Control* 24:285–291
- Kacar, B.,** 1972, Bitki ve Toprağın Kimyasal Analizleri II. Bitki Analizleri, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:453, Ankara.
- Khalmi, K., Suprpta, D. and Nitta, Y.,** 2012, Effect of *Pantoea agglomerans* on growth promotion and yield of rice. *Agricultural Science Research Journals* Vol. 2 (5): 240-249 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- King, E. O., Ward, M. K. and Raney, D.,** 1954, Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin.. Issue 44, 301-307 pp.
- Klement, Z., Rudolph, K. and Sands, D.,** 1990, *Methods in phyto bacteriology*. Budapest: Akadémiai Kaidó.
- Kloepper, J. W. and Schroth, M.N.,** 1978, Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes, p. 879–882. In Station de pathologie vegetale et phyto-bacteriologie (ed.), *Proceedings of the 4th International Conference on Plant Pathogenic Bacteria*, vol. II. Gilbert-Clairey, Tours, France.
- Kloepper, J. W., Leong, J., Tientze, M. and Schroth, M.N.,** 1980, Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth promoting rhizobacteria. *Nature* 286:885–886.
- Kloepper, J.W., Scher F. M., Laliberte M. and Tipping B.,** 1986, Emergence-promoting rhizobacteria: Description and implications for agricultures. NATO ASI, Series A Life Science, 117, 155-164.
- Kloepper, J.W., Lifshitz, K. and Zablotowicz, R.M.,** 1989, Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7, 39–43.
- Kloepper, J.W., Tipping, E.M. and Lifshitz, R.,** 1991, Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In: *The Rhizosphere and Plant Growth*. pp.315–326. Keister, D.L. and Cregan, P.B., Eds., Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Kloepper, J. W.,** 1992, Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. In: *Soil Microbial Ecology: Applications in Agricultural and Environmental Management*, Metting, F. B., Jr., Ed., Marcel Dekker, New York, 255–274 pp.
- Kloepper, J.W., Schippers, B. and Bakker, P.A.H.M.,** 1992, Proposed elimination of the term endorhizosphere. *Phytopathology* 82:726–727.
- Kloepper, J. W.,** 1993, Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents. *Soil Microbial Ecology*, F. Blasne Metting, J. ed. Marcel Dekker, Inc. New York, 255-274.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kloepper, J. W., Rodriguez-Ubana, R., Zehnder, G. W., Murphy, J. F., Sikora, E. and Fernandez, C.,** 1999, Plant root-bacterial interactions in biological control of soilborne diseases and potential extension to systemic and foliar diseases. *Austral. Plant Pathol.* 28:21–26.
- Kokalis-Burella, N., Vavrina, E.N., Roskopf, E.N. and Shelby, R.A.,** 2002, Field evaluation of plant growth promoting rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. *Plant Soil*, 238, 257-266.
- Kuklinsky-Sobral, J., Araujo, W., Mendes, R., Geraldi, I., Pizzirani-Kleiner A. and Azevedo, J.,** 2004, Isolation and characterization of soybean-associated bacteria and their potential for plant growth promotion. *Environmental Microbiology* 6: 1244-1251.
- Kucharski, J., Ciecko, Z., Niewolak, T. and Niklewska-Larska, T.,** 1996, Activity of microorganisms in soil of different agricultural usefulness complexes fertilized with mineral nitrogen. *Acta Acad. Agric. Tech.* 62, 25-35.
- Kurze, S., Dahl, R., Bahl, H. and Berg, G.,** 2001, Biological control of fungal strawberry diseases by *Serratia* HRO-C48. *Plant Dis* 85: 529–534.
- Ladha, J. K. and Reddy, P. M.,** 1995, Extension of nitrogen fixation to rice — necessity and possibilities. *Geo. J.* 35: 363–372.
- Lamb, T. G., Tonkyn, D. W., and Kluepfel, D. A.,** 1996, Movement of *Pseudomonas aureofaciens* from the rhizosphere to aerial plant tissue. *Can. J. Microbiol.* 42: 1112–1120.
- Lazarovits, G. and Nowak, J.,** 1997, Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *Hortscience* 32: 188–192.
- Lee, S., Flores-Encarnacion, M., Contreras-Zentella, M., Garcia-Flores, L., Escamilla, J. E., and Kenned, C.,** 2004, Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome C biogenesis genes. *J Bacteriol* 186: 5384–5391.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Leifert, C., Morris, C. E., and Waites, W. M.,** 1994, Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reasons for contamination problems *in vitro* . *Crit. Rev. Plant Sci.* 13:139–183.
- Lemanceau, P., C. Steinberg, D. J. I. Thomas, V. Edel, J. M. Raaijmakers and Alabouvette, C.,** 2000, Natural Soil Suppressiveness to Soilborne Diseases. Fifth International PGPR Workshop, 29 October-3 November, 2000, Cordoba-Argentina.
- Lilley, A. K., Fry J.C., Bailey, M. J. and Day, M. J.,** 1996, Comparison of aerobic heterotrophic taxa isolated from four root domains of mature sugar beet (*Beta vulgaris*). *FEMS Microbiol Ecol* 21:231–242; **McInroy JA, Kloepper JW** (1995) Survey of indigenous bacterial endophytes from cotton and sweet corn. *Plant Soil* 173:337–342
- Liu, L., Kloepper, J.W. and Tuzun, S.,** 1995, Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695–698.
- Lucas Garcia, J. A., A. Probanza, B. Ramos, N. Ruiz Palomino, and F. J. Gutierrez Manero.** 2000, Effects of inoculation with PGPR on seedling Growth of Different tomato and Pepper Varieties in Axenic Conditions. Fifth International PGPR Workshop, 29 October - 3 November, 2000, Cordoba-Argentina.
- Lugtenberg, B.J.J., Dekkers, L. and Bloemberg, G.V.,** 2001, Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas*. *Annual Review of Phytopathology* 39, 461-490.
- Lugtenberg, B. and Kamilova, F.,** 2009, Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63, 541-556.
- Mahaffee, W.F. and Kloepper, J.W.,** 1997a, Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L). *Microb Ecol* 34:210–223.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Mahaffee, W.F. and Kloepper, J.W.**, 1997b, Temporal changes in the bacterial communities of soil, rhizosphere, and endorhiza associated with fieldgrown cucumber (*Cucumis sativus* L). *Microb Ecol* 34:210–223.
- Mahaffee, W.F., Kloepper, J.W., Van Vuurde, J.W.L., Vander Wolf, J.M., and Van den Brink, M.** 1997, Endophytic colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Pseudomonas fluorescens* strain 89B-27 and *Enterobacter asburiae* strain JM22. In: Improving Plant Productivity in Rhizosphere Bacteria. Ryder M.H., Stephens P.M., and Bowen G.D., Eds., CSIRO, Melbourne, Australia.
- Malfanova, N., Kamilova, F., Validov, S., Shcherbakov, A. and Lugtenberg, B.**, 2011, Characterization of *Bacillus subtilis* HC8, a novel plant- beneficial endophytic strain from giant hogweed. *Microb. Biotech.* 4: 523-532.
- Mayak, S., Tirosh, T. and Glick, B. R.**, 2004, Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol. Biochem.*42: 565–572.
- McInroy, J. A. and Kloepper, J. W.**, 1994, Studies on indigenous endophytic bacteria of sweet corn and cotton. In: Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms. Biotechnology and the Release of GMOs. O’Gara, F., Dowling, D. N., and Boesten, B., Eds., VCH, Verlagsgesellschaft mbH, Germany, 19–28 pp.
- McInroy, J. A. and Kloepper, J. W.** 1995, Population Dynamics of endophytic bacteria in field-grown sweet corn and cotton. *Can. J. Microbiol.* 41: 895–901.
- Misaghi, I. J. and Donndelinger, C. R.**, 1990, Endophytic bacteria in symptom-free cotton plants. *Phytopathology* 80: 808–811.
- M’piga, P., Bélanger, R.R., Paulitz, T.C. and Benhamou, N.**, 1997, Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.50, 301-320 pp.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Murty, M. G. and Ladha, J. K.,** 1988, Influence of *Azospirillum* inoculation on the mineral uptake and growth of rice under hydroponic conditions. *Plant Soil* 108:281–285.
- Müller, H., Westendorf, C., Leitner, E., Chernin, L., Riedel, K., Schmidt, S., Eberl, L. and Berg, G.,** 2009, Quorum-sensing effects in the antagonistic rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. *FEMS Microbiology Ecology* 67, 468-478.
- Nadeem, S.M., Zahir, Z. A., Naveed, M. and Ashraf, M.,** 2010, Microbial ACC-deaminase: prospects and applications for inducing salt tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 29: 360-393.
- Nautiyal, C.S.,** 1999, Ancient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiology Letters*, Issue 170, 265-270 pp.
- Nowak, J. and V. Shulaev.** 2003, Priming for transplant stress resistance in *in vitro* propagation. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant.* 39: 107–124.
- Parmar, N., and K. R. Dadarwal.,** 2000, Pathogenic Suppressive Abilities of Rhizosphere Bacteria From Healthy Chikpea Plants. Fifth International PGPR Workshop, 29 October - 3 November, 2000, Cordoba-Argentina.
- Patriquin, D. G. and Döbereiner, J.,** 1978, Light microscopy observations of tetrazolium-reducing bacteria in endorhizosphere of maize and other grasses in Brazil. *Can. J. Microbiol.* 24: 734–742.
- Pieterse, C.M.J., vanWees, S.C.M., van Pelt, J.A., Knoester, M., Laan, R., Gerrits, H., Weisbeek, P.J. and van Loon, L.C.,** 1998, A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. *Plant Cell* 10: 1571–1580.
- Pillay, V. J. and Nowak, J.,** 1997, Inoculum density, temperature and genotype effects on *in vitro* growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. *Can. J. Microbiol.* 43: 354–361.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pirttilä, A., Joensuu, P., Pospiech, H., Jalonen, J. and Hohtola, A.,** 2004, Bud endophytes of Scots pine produce adenine derivatives and other compounds that affect morphology and mitigate browning of callus cultures. *Physiol Plant*. 121,305–312.
- Puentea, M., Ching, Y., Li B. L. and Yoav Bashana, C.,** 2009, Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus Seedlings. *Environmental and Experimental Botany* 66: 402–408.
- Quadt-Hallmann, A. and Kloepper, J. W.,** 1996, Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. *Can. J. Microbiol.* 42: 1144–1154.
- Quadt-Hallmann, A., Hallmann, J. and Kloepper, J.W.,** 1997, Bacterial endophytes in cotton: localization and interaction with other plant-associated bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, v.43, 254-259 pp.
- Quispel, A.** 1991, A critical evaluation of the prospects for nitrogen fixation with non-legumes. *Plant Soil* 137:1–11.
- Raaijmakers, J.M., Leeman, M., Van Oorschot, M. M. P., Van Der Sluis, I. and Schippers, B.,** 1995, Dose-response relationship in biological control of Fusarium Wilt of radish by *Pseudomonas* spp. *Phytopathology* 85: 1075-81.
- Reddy, M.S. and Rahe, J.E.,** 1989, Growth effects associated with seed bacterization not correlated with populations of *Bacillus-subtilis* inoculant in onion seedling rhizospheres. *Soil Biol Biochem.*,21 (3): 373-378 1989.
- Reinhold-Hurek, B. and Hurek, T.,** 1998, Life in grasses: diazotrophic endophytes. *Trends Microbiol.* 6, 139–144.
- Robinson, R.W.,** 1999, Cucurbits. CAB International, 221, New York, USA.
- Rosenblueth, M. and Martínez-Romero, E.,** 2006, Bacterial endophytes and their interaction with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19, 827-837.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rovira, A. D.**, 1965, Interactions between plant roots and soil microorganisms. *Annu. Rev. Microbiol.* 19: 241–266.
- Ryan R. P, Germaine K, Franks A, Ryan D. J. and Dowling D. N.**, 2008, Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol. Lett.* 278: 1-9.
- Schaad, N., Jones, J. and Chun, W.**, 2001, Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria.. 3. Baskı ed., APS press. 543p.
- Schippers, B., Bakker, A. W. and Bakker, P.A.H.M.**, 1990, Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. *Plant Soil* 129: 75–83.
- Schuhegger, R., Ihring, A., Gantner, S., Bahnweg, G., Knappe, C., Vogg, G., Hutzler, P., Schmid, M., Van Breusegem, F., Eberl, L., Hartmann, A., Langebartels, C.**, 2006, Induction of systemic resistance in tomato by N-acetyl-L-homoserine lactone producing rhizosphere bacteria. *Plant Cell and Environment* 29, 909-918.
- Selvakumar, G., Chahuan, H., Sundaram, S. P. and Bagyaraj, D. J.**, 2008, Novel plant growth promoting rhizobacteria-Prospects and potential. *Applied Soil Ecology* 95 (2015) 38-53.
- Siddiqui, Z.A.**, 2006, Prospective Biocontrol Agents of Plant Pathogens. PGPR: Biocontrol and Biofertilization. A. Zaki and Siddiqui. (Eds.). (pp. 111-142). Springer, The Netherlands.
- Silini-Chérif , H., Silini A., Ghoul M. and Yadav S.**, 2012, Isolation and characterization of plant growth promoting traits of a rhizobacteria: *Pantoea agglomerans* Ima2. *Pak J Biol Sci*, 2012 Mar 15, 15 (6) 267-76.
- Simons, M., Permentier, H. P., deWeger, L. A., Wijffelman, C. A. and Lugtenberg, B.J.J.**, 1997, Amino acid synthesis is necessary for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* strain WCS365. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 10, 102-106.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Smith, E.F.**, 1911, Bacteria in Relation to Plant Diseases, vol. 2. Carnegie Institute, Washington, USA.
- Sørensen, J. and Sessitsch, A.**, 2006, Plant-associated bacteria lifestyle and molecular interactions. In *Modern Soil Microbiology* (2nd edn) (van Elsas, J.D. et al., eds), pp. 211–236, CRC Press.
- Soto, M. J., Sanjuán, J. and Olivares, J.**, 2006, Rhizobia and plant-pathogenic bacteria: common infection weapons. *Microbiology* 152, 3167-3174.
- Sprent, J. I. and de Faria, S. M.**, 1988, Mechanisms of infection of plants by nitrogen fixing organisms. *Plant Soil* 110: 157–165.
- Strader, L. C., Chen, G. L. and Bartel B.**, 2010, Ethylene directs auxin to control root cell expansion. *Plant Journal* 64: 874-884.
- Strobel, G. A., Dirksie, E., Sears, J. and Markworth, C.**, 2001, Volatile antimicrobials from a novel endophytic fungus. *Microbiology* 147: 2943-2950.
- Sturz, A. V., Christie, B. R. and J. Nowak.**, 2000, Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. *Crit. Rev. Plant Sci.* 19: 1–30.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., and Matheson, B.G.**, 1998, Associations of bacterial endophyte populations from red clover and potato crops with potential for beneficial allelopathy. *Can. J. Microbiol.* 44: 162–167.
- Sturz, A. V., Christie, B. R., Matheson, B. G. and Nowaki J.**, 1997, Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biol. Fertil. Soils* 25: 13-19.
- Taghavi, S., Garafola, C., Monchy, S., Newman, L., Hoffman, A. and Weyens, N.**, 2009, Genome survey and characterization of endophytic bacteria exhibiting a beneficial effect on growth and development of poplar trees. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 748-757.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Tervet, I. W. and Hollis, J. P.**, 1948, Bacteria in the storage organs of healthy plants. *Phytopathology* 38: 960–967.
- Tien, T. M., Gaskins, M. H., and Hubell, D. H.**, 1979, Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Appl. Environ. Microbiol.* 37: 1016–1024.
- Tjamos, E.C. Tsitsigiannis , D. I., Tjamos , S. E., Antoniou, P. P. and Katinakis, P.**, 2004, Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarized soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. *European Journal of Plant Pathology* 110: 35–44.
- Tsavkelova, E., Cherdyntseva, T., Botina, S. and Netrusov, A.**, 2007, Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiological Research* 162: 69-76
- TUİK**, 2014, http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?alt_id=45 (Erişim tarihi:3 Mart 2015)
- Uthede, G. S., Koch, C. A. and Menzies, J. G.**, 1999, Rhizobacterial growth and yield promotion of cucumber plants inoculated with *Pythium aphanidermatum*, Can, J. Plant athol, 21, 265-271.
- Van Buren, A. M., Andre, C. and Ishimaru, C. A.**, 1993,Biological control of the bacterial ring rot pathogen by endophytic bacteria isolated from potato. *Phytopathology* 83: 1406.
- Verhagen B. W. M., Glazebrook J., Zhu T., Chang H. S., van Loon L. C. and Pieterse C.M.J.**, 2004, The transcriptome of rhizobacteria-induced systemic resistance in Arabidopsis. *Molecular Plant- Microbe Interactions* 17: 895-908.
- Verma, S. C., Ladha, J. K and Tripathi, A.K.**, 2001, Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J. Biotechnol* 91: 127–141.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vessey, J. K.**, 2003, Plant growth promoting rhizobacteria as bio fertilizers. *Plant and Soil*. 255, 571-586.
- Wakelin, S., Warren, R., Harvey, P. and Ryder, M.**, 2004, Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. *Bio Fert Soils* 40: 36–43.
- Walker, T. S., Bais, H. P., Grotewold, E. and Vivanco, J. M.**, 2003, Root exudation and rhizosphere biology. *Plant Physiology* 132, 44-51.
- Webster, G., Gough, C., Vasse, J., Batchelor, C. A., O’Callaghan, K. J., Kothari, S. L. and Davey, M.R.**, 1997, Interactions of rhizobia with rice and wheat. *Plant Soil* 194:115–122.
- Wei, G., Kloepper, J. W. and Tuzun, S.**, 1991, Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 81: 1508–1512.
- Wei, G., Kloepper, J. W. and Tuzun, S.**, 1996, Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions.
- Welbaum, G., A. V. Sturz, Z. Dong, and J. Nowak.**, 2004, Fertilizing soil microorganisms to improve productivity of agroecosystems. *Crit. Rev. Plant Sci.* 23: 175–193.
- Weller, D.M.**, 1988, Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann. Rev. Phytopathol.* 26, 379–407.
- Xu, H., Griffith, M., Patten, C. L. and Glick, B. R.**, 1998, Isolation of an antifreeze protein with ice nucleation activity from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Can. J. Microbiol.* 44:64–73.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yanni, Y. G., Rizk, R.Y., Corich, V., Squartini, A., Ninke,K., Philip-Hollingsworth, S., Orgambide, G., de Bruijn,F., Stolfus, J., Buckley, D., Schmidt, T. M., Mateos,P. F. and Dazzo, F. B., 1997,** Natural endophytic asso association between *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* and rice roots and assessment of its potential to promote rice growth. *Plant Soil* 194: 99–114.
- Zachow, C., Fatehi, J., Cardinale M., Tilcher R. and Berg G., 2010,** Strain-specific colonization pattern of Rhizoctonia antagonists in the root system of sugar beet. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74: 124-135.
- Zinniel, D. K. , Lambrecht, P. and Harris, B.N., 2002,** Isolation and characterization of endophytic colonizing.

ÖZGEÇMİŞ

Araştırmacı 17/09/1985 tarihinde Elazığ’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2005 yılında Ege Üniversitesi, Bayındır Meslek Yüksekokulunda önlisans eğitime başladı. 2007 yılında Seracılık Programından mezun oldu. 2009 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünde lisans eğitime başladı. 2012 yılında aynı bölümden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilimdalı, Fitopatoloji Bilimdalında yüksek lisans eğitime başladı.