



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

**SİDEROFOR ÜRETEEN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİNİN
BİYOKONTROL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNE DURMAZ

ŞUBAT

EMİNE DURMAZ	BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI	ŞUBAT 2025
---------------------	------------------------------------	-------------------

**SİDEROFOR ÜRETEN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİNİN
BİYOKONTROL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

Emine DURMAZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2025

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Emine DURMAZ tarafından hazırlanan “Siderofor Üreten Bazı Toprak Bakterilerinin Biyokontrol Özelliklerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Başkan: Doç. Dr. Gözde KILINÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

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

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Ferit Can YAZDIÇ

Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Munzur Üniversitesi

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

Tez Savunma Tarihi: 05/02/2025

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

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

bildirir, aksi bir durum da aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Emine DURMAZ
05/02/2025

SİDEROFOR ÜRETEN BAZI TOPRAK BAKTERİLERİNİN BİYOKONTROL ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Emine DURMAZ

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Şubat 2025

ÖZET

Sideroforlar organizmalarda demir bağlama özelliklerine sahip, yapısında çeşitli kimyasallar içeren hücre dışı metabolitlerdir. Bu bileşikler çeşitli mikroorganizmalardan tarafından üretilmektedir. Yapılan bu çalışmada farklı türde bitkilerin rizosfer kısmından 72 bakteri izolatu izole edilerek siderofor üretme yeteneği CAS Agar besiyer kullanılarak belirlenmiştir. Yapılan değerlendirmede 18 bakteri izolatu siderofor ürettiği ve siderofor üretme indekslerinin 1.2-4.3 arasında değiştiği belirlenmiştir. Rizosfer toprağından izole edilen tüm bakteri izolatları topraktan izole edilen ve bitki patojeni olan *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* 'ya karşı biyokontrol etkinlikleri *in vitro* ortamda belirlenmiştir. Bakteri izolatları arasında 8 izolat *F.oxysporum* misel gelişimini kontrole göre % 54.54-72.72 arasında baskıladığı bu izolatlardan 5 tanesinin siderofor üretme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. *Alternaria alternata* 'ya karşı yapılan biyokontrol değerlendirilmesinde ise 72 izolatu 38 'si, kontrole göre misel gelişimini %42,5-80 arasında değişen oranlarda engelleyerek biyokontrol özelliği göstermiştir. Bu izolatlardan ise siderofor ürettiği belirlenen 18 izolattan 16 izolat *A.alternata* 'ya karşı biyokontrol özelliği göstermiştir. Hem siderofor özellik gösteren hem de her iki patojen fungus türüne karşı biyokontrol özelliği gösteren izolatlar, MALDİ TOF MS tanılama yöntemi kullanılarak *Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter bugandensis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus mojavensis* olarak tanılanmıştır. Yapılan bu çalışma siderofor ile ilgili yapılan diğer çalışmalara kaynak oluşturması açısından önemlidir. Siderofor ile ilgili bu veriler bakterilerin bitki koruma ve tarımsal uygulamalarında kullanılabilirliği araştırılabilir.

Sayfa Sayısı : 40

Anahtar Kelimeler : Siderofor, Biyokontrol, Toprak bakterileri

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ

INVESTIGATION OF THE BIOCONTROL PROPERTIES OF SOME SIDEROPHORE PRODUCING SOIL BACTERIA

(M. Sc. Thesis)

Emine DURMAZ

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

February 2025

ABSTRACT

Siderophores are extracellular metabolites containing various chemicals with iron binding properties in organisms. These compounds are mainly produced by microorganisms. In this study, 72 bacterial isolates were isolated from the rhizosphere of different plants and their ability to produce siderophores was determined using CAS Agar medium. It was determined that 18 bacterial isolates produced siderophores and siderophore production indices ranged between 1.2-4.3. Biocontrol activities of all bacterial isolates isolated from rhizosphere soil against *Fusarium oxysporum* and *Alternaria alternata*, which are plant pathogens isolated from soil, were determined *in vitro*. Among the bacterial isolates, 8 isolates suppressed *F.oxysporum* mycelial growth between 54.54-72.72 % compared to the control and 5 of these isolates were found to have the potential to produce siderophores. In the biocontrol evaluation against *Alternaria alternata*, 38 of 72 isolates showed biocontrol feature by inhibiting mycelial growth at rates ranging from 42.5-80% compared to the control. Among these isolates, 16 isolates out of 18 isolates which were found to produce siderophores showed biocontrol properties against *A. alternata*. Isolates showing both siderophore and biocontrol properties against both pathogenic fungi species were identified as *Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter bugandensis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas putida*, *Bacillus mojavensis* using MALDI TOF MS identification method. This study is important in terms of being a source for other studies on siderophore. These data on siderophore can be used in plant protection and agricultural applications of bacteria.

Number of Pages : 40
Keywords : Siderophore, Biocontrol, Soil bacteria,
Advisor : Asst. Prof. Dr. İdris BEKTAŞ

ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşarak çalışmamı özenli bir şekilde yönlendiren, her koşulda sabrını ve emeklerini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi İdris BEKTAŞ'a, Amasya Üniversitesi Suluova Meslek Yüksekokulu Laboratuvarının tüm akademik ve idari personeline teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deney kısmında ve yazımı sırasındaki yardımları ve destekleri için çok değerli arkadaşlarım Betül YILDIRIM ve Esmâ KETEN'e minnettarım.

Her daim bana güvenen ve desteklerini hep yanımda hissettiğim biricik babam ve canım anneme,

Varlıklarıyla beni mutlu eden ablam Tuğba KALKAN ve biricik kardeşlerim Ömer Baki ve Naciye DURMAZ'a,

Hayatım boyunca varlığını ve desteğini her daim hissettiğim hayattaki en büyük şansım ablam Zeynep Duygu AYDIN'a, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen abim Hamid AYDIN'a,

Minicik kalpleriyle gönlümü fetheden neşe kaynaklarım Muhammed Fatih ve Mustafa Selim'e,

En içten saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ VE TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Siderofor Üretimi Yapan Mikroorganizmalar.....	6
1.2. Sideroforların Kullanıldığı ve Fayda Sağladığı Alanlar.....	7
2. LİTERATÜR.....	9
3. YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Kullanılan besiyerleri.....	13
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Topraktan bakteri izolasyonu.....	16
3.2.2. Siderofor üreten bakterilerin belirlenmesi.....	17
3.2.3. Siderofor üretme indekslerinin hesaplanması.....	18
3.2.4. Topraktan fungus izolasyonu.....	19
3.2.5. Bakteri izolatlarının biyokontrol özelliklerinin belirlenmesi.....	19
3.2.6. MALDI-TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanılanması.....	20

3.2.7. İstatiki analiz.....	20
4. BULGULAR.....	21
4.1. Bakteri İzolasyonu.....	21
4.2. Siderofor Üreten Bakterilerin Tespiti	21
4.3. Bakterilerin Siderofor Üretme İndekslerinin Hesaplanması.....	22
4.4. Topraktan Fungus İzolasyonu.....	23
4.5. Bakteri İzolatlarının Biyokontrol Özelliklerinin Belirlenmesi.....	24
4.6. Bakterilerin MALDI-TOF Analiz Sonuçları.....	28
5. TARTIŞMA.....	29
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	32
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen siderofor tipleri.....	6
Çizelge 4.1. Toprakтан izole edilen bakteri izolatların siderofor üretme indekslerinin karşılaştırılması	22
Çizelge 4.2. <i>Alternaria alternata</i> 'ya karşı biyokontrol özelliği gösteren bakteri izolatları ve % engelleme miktarları	25
Çizelge 4.3. <i>Fusarium oxysporium</i> 'a karşı biyokontrol özelliği gösteren izolatlar % engelleme oranları.....	26
Çizelge 4.4. Siderofor özellik gösteren bakteri izolatlarının patojen funguslara karşı biyokontrol etkinlikleri	27
Çizelge 4.5. Siderofor üretme potansiyeline sahip olan ve her iki fungus türüne karşı biyokontrol özellik gösteren izolatların MALDI-TOF tanı sonuçları.....	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Bir demir-siderofor kompleksinin Gram-negatif bir bakteri hücreğine taşınması.....	3
Şekil 1.2. Bir demir-siderofor kompleksinin Gram-pozitif bir bakteri hücreğine taşınması	3
Şekil 1.3. Çeşitli sideroforların kimyasal yapıları.....	4
Şekil 1.4. Hidroksamat siderofor örnekleri: shizokinen, rizobaktin, visibaktin.....	5
Şekil 1.5. Katekolat tipi sideroforların örnekleri.....	5
Şekil 1.6. Truva atı stratejisi. Antibiyotik-siderofor konjugantının hücre içine alınması.....	7
Şekil 1.7. Sideroforlar aracılığı ile pas giderimi.....	8
Şekil 3.1. Siderofor üretme indekslerinin hesaplanması.....	19
Şekil 3.2. Toprakta izole edilen bakteri izolatlarının <i>in vitro</i> ortamda fungusa karşı biyokontrol değerinin hesaplanmasında uygulanan formül.....	20

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Amasya ilindeki farklı bölgelerden alınarak laboratuvara getirilen toprak örnekleri.....	13
Resim 3.2. CAS Agar'ın hazırlanıp petrilere dökülmesi.....	16
Resim 3.3. Toprak numunelerinin bakteri izolasyonu için hazır hale getirilmesi.....	16
Resim 3.4. Bakterilerin izolasyonu.....	17
Resim 3.5. CAS Agar besiyeri içeren petrilерinin numaralandırılması.....	18
Resim 3.6. Bakterilerin koloni çevresinde siderefor ürettiğini gösteren zon.....	18
Resim 4.1. Bakteri izolatlarının Nutrient Agarda gelişmesi.....	21
Resim 4.2. F.4.1 ve A.2.1.1. kodlu izolatların siderofor üretimini gösteren turuncu zon...	21
Resim 4.3. A.2.1.1 kodlu izolatın CAS besiyerinde gelişimi ve oluşturduğu zon.....	23
Resim 4.4. <i>Alternaria alternata</i> 'nın saflaştırılması işleminden sonra petride gelişimi.....	24
Resim 4.5. <i>Fusarium oxysporum</i> 'un saflaştırılması işleminden sonra petride gelişimi.....	24
Resim 4.6. <i>Alternaria alternata</i> 'ya karşı misel engelleme gösteren ve göstermeyen izolatlar	26
Resim 4.7. <i>Fusarium oxysporum</i> 'a karşı misel engelleme gösteren ve göstermeyen izolatlar	27

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklama

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
g	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
DA	Dalton

Kısaltmalar

Açıklama

NA	Nutrient agar
NB	Nutrient broth
PDA	Potato dextrose agar
CAS	Chrome azurol sulfonate
MM9	Minimal media 9
HDTMA	Hexadecyltrimethylammonium bromide

1.GİRİŞ

Sideroforlar, bakteriler vb. birçok mikroorganizma tarafından sentezlenen demir bağlayıcı şelatörler olup bu kısımda sideroforların kimyasal yapısı, çeşitleri ve kullanım alanlarına ayrıca siderofor üreten mikroorganizmalar ile ilgili bilgilere yer verilmiştir.

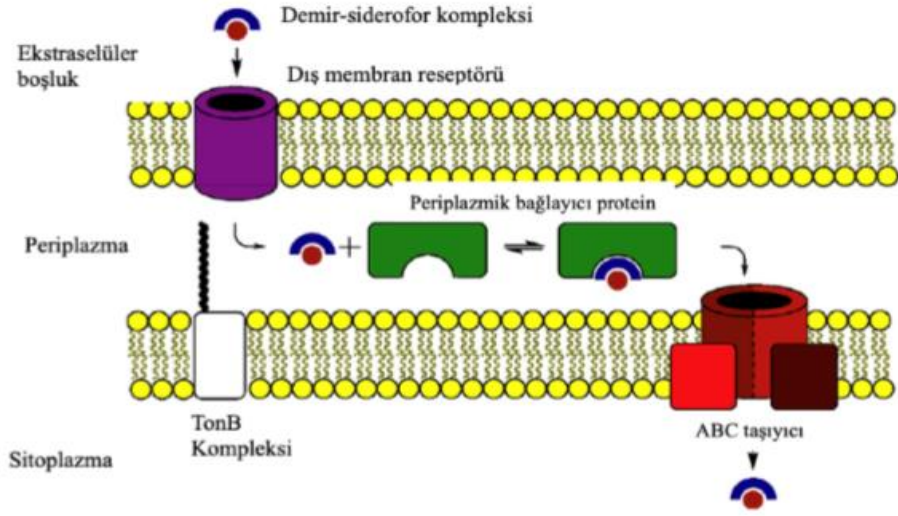
Mikro besinlerden birisi olan demir, yer kabuğunda en çok bulunan dördüncü elementtir (Ma, 2005). Demir elementi hücresel düzeyde, DNA sentezi, amino asit ve nükleosit sentezi, sitrik asit döngüsü, oksijen taşınımı ve fotosentez dahil olmak üzere çeşitli metabolik ve sinyal verme işlevleri için biyolojik süreçlerde yer almaktadır. Diğer organizmalar gibi bakteri ve bitkiler de biyolojik süreçlerde demire ihtiyaç duyarlar (Barker ve Pilbeam, 2015). Demir yerkabuğunda en fazla bulunan elementlerden biri olmasına rağmen direkt kullanılabilirliği sınırlıdır. Bu yüzden mikroorganizmalar, bakteri, bitki vb. organizmalarda birçok metabolik faaliyetin gerçekleşmesi için gerekli olan demiri sağlamak için siderofor adı verilen düşük moleküler ağırlıklı demir şelatlayıcı ajanlar üretirler (Neilands, 1995).

Siderofor, demir elementi alınımının yetersiz olduğu durumlarda bakteriler, aktinomisetler, mantarlar ve bazı algler tarafından sentezlenerek salgılanan protein yapılı düşük moleküler ağırlıklıya sahip metabolittir (Miethke ve Marahiel, 2007). Bakteriler metalleri çeşitli enzimlerin yapısında kofaktör görevinde kullanarak metabolizmaya katılmasını sağlar. (Ratledge ve Dover, 2000; Skaar, 2010). Bakteriler yaşamlarının devamlılığı için metalleri hücre içine almalıdır, bu yüzden bakteriler için metaller oldukça önemlidir. Metallerin toprakta kullanılabilir serbest iyon halinde sınırlı oranda bulunduğu durumlarda metallerin temini için bakteriler özel mekanizmalar geliştirmiştir. Sideroforlar demirin ferrik iyon formunda bulunduğu ortamlarda ferrik iyonla etkileşime girebilen ve bakteriler tarafından üretilen özel mekanizmalardan birisidir. Ayrıca sideroforların, demir yanında başka metalleride bağlayabilme kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir (Hofmann ve diğerleri, 2020). Sideroforların kimyasal yapısı, 400-1500 Da arasında moleküler ağırlıklarına sahip demir bağlayıcı proteinlerdir. Bu bileşiklerin görevi, ortamda bulunan demiri bağlayarak, canlılar için daimi olarak gerekli olan demiri vücut içinde kullanılabilir hale getirmektir (Balagurunathan ve Radhakrishnan, 2007).

Sideroforlar, demir şelatlayıcı sekonder metabolitler olup kütleleri 2.000 Da'nın altındadır (Budzikiewicz, 2010). Yapısal olarak küçük peptit moleküllerden oluşan sideroforlar ferrik iyonlar ile tepkimeye girebilecek fonksiyonel gruplara ve yan zincirlere sahiptir (Goswami, Thakker, Dhandhukia, 2016). Birtakım ligandlar için yüksek düzeyde afinite gösteren ve demir taşıma görevi gören şelatörlerdir (Sandy ve Butler, 2009). Sideroforlar yapı itibariyle birden çok çeşitlere sahiptir ve tanımlanmış 500'den fazla siderofor varlığı belirlenmiştir (Boukhalfa ve Crumbliss, 2002). Sideroforlar içerisinde birkaç yüz aktif demir-şelatlayıcı bileşik karakterize edilmiş ve saflaştırılmıştır (Hider ve Kong, 2010). Sideroforların birçoğu, altı dişli ligandlar olup ferrik iyon ile 1:1 kompleksler oluşturur (Kraemer, 2004). Fe^{+3} ile oluşturduğu komplekslere göre Fe^{+2} ile kararlı kompleksler yapma kapasiteleri oldukça zayıftır (Miethke ve Marahiel, 2007). Bakterilerde siderofor biyosentezi bağımsız siderofor sentetaz (NIS), poliketid sentaz (PKS) ve ribozomal olmayan peptit sentetaz (NRPS) gibi birkaç enzim tarafından gerçekleştirilir (Lamb, 2015). Sideroforların demir haricinde Ag^+ , Al^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Cr^{2+} , Cu^{2+} , Eu^{3+} , Ga^{3+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , Tb^{3+} , Tl^+ ve Zn^{2+} gibi 16 adet ağır metalleri de şelatlayabildikleri tespit edilmiştir (Braud, Jézéquel, Bazot, Lebeau, 2009). Sideroforun Fe^{+3} bağlayabilme afinitesi diğer ağır metallere göre daha yüksektir (Baysse ve diğerleri, 2000; Braud, Jézéquel, Bazot, Lebeau, 2009). Sideroforlar ağır metaller ile kompleks oluşturarak onların oksidasyon ligantları değiştirirler, böylece doğada daha az toksik duruma dönüştürürler (Schalk, Hannauer, Braud, 2011). Sideroforlar aynı zamanda toksik ağır metallere bağlanarak toksik ağır metallerin bitki hücrelerine etki etmesine engel olurlar (Braud, Jézéquel, Bazot, Lebeau, 2009). Bu yüzden sideroforların ağır metallerle kompleks oluşturması bitki büyümesinde büyük öneme sahiptir.

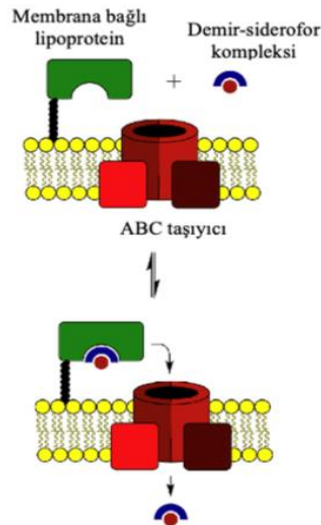
Demir-siderofor kompleksleri mikroorganizma türüne göre farklı taşıma sistemleri tarafından taşınır. Bakterilerde Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteri durumuna göre taşıma sistemlerinde farklılık gösterir. Birçok demir-siderofor kompleksinin boyutu Gram-negatif bakterilerde porin boyut sınırını aştığı için özel dış membran reseptörleri ile dış zardan periplazma içerisine taşınır. Periplazmaya geçen demir-siderofor kompleksleri burada periplazmik bağlayıcı proteinler tarafından tutularak sitoplazmik zara iletilirler. Siderofor taşınması aşamasında görev alan proteinler hücre zarının farklı kısımlarında konumlanmış durumda bulunur ve proteinlerin kendine özgü enerji ihtiyaçları oluşur (Ferguson ve Deisenhofer, 2002). Zarda bulunan ABC taşıyıcıları ile demir-siderofor kompleksleri hücre içerisine geçişi sağlanır. Gram-negatif bakterilerde demir-siderofor

komplekslerinin hücre içine katılabilmesi için bu üç ortamdan geçmesi gerekmektedir (Şekil 1.1) (Raines, Sanderson, Wilde, Duhme-Klair, 2015).



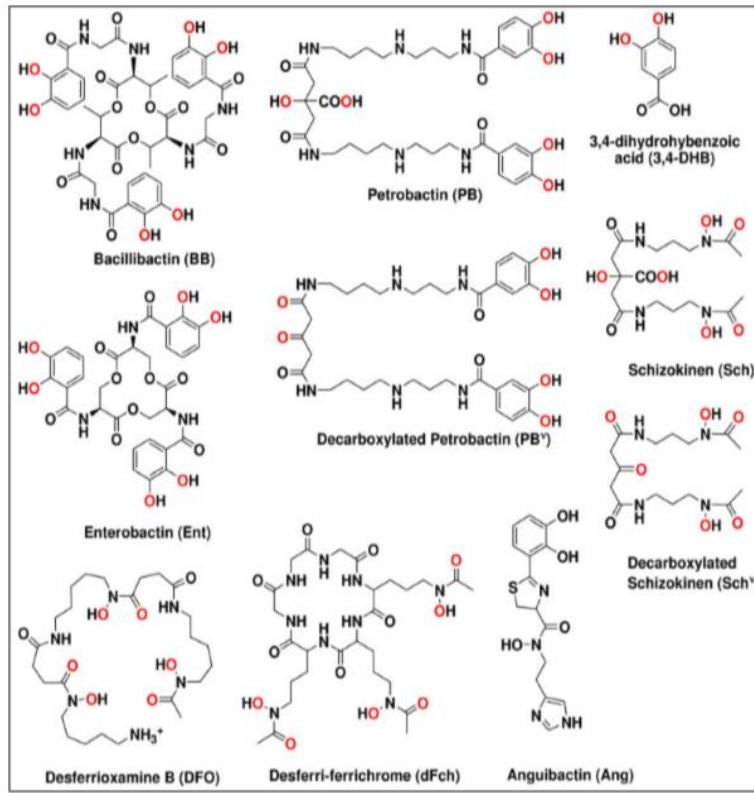
Şekil 1.1. Bir demir-siderofor kompleksinin Gram-negatif bir bakteri hücresine taşınması (Raines, Sanderson, Wilde, Duhme-Klair, 2015).

Gram-pozitif bakterilerde dış zarın olmamasından kaynaklı demir taşıma sistemi, Gram-negatif bakterilerin iç zar taşıma sistemine benzemektedir. Gram-pozitif bakterilerde periplazmik bağlayıcı proteinlere eşdeğer olarak membrana bağlı lipoproteinler vardır ve yapısal olarak PBP'lerle benzer yapıya sahiptir. Demir-siderofor kompleksinin hücre içersine alınımı Gram-negatif bakterilerdeki gibi ABC taşıyıcıları ile taşındığı tahmin edilmektedir (Şekil 1.2) (Ghosh, Bera, Chakrabarty, 2020; Raines, Sanderson, Wilde, Duhme-Klair, 2015).



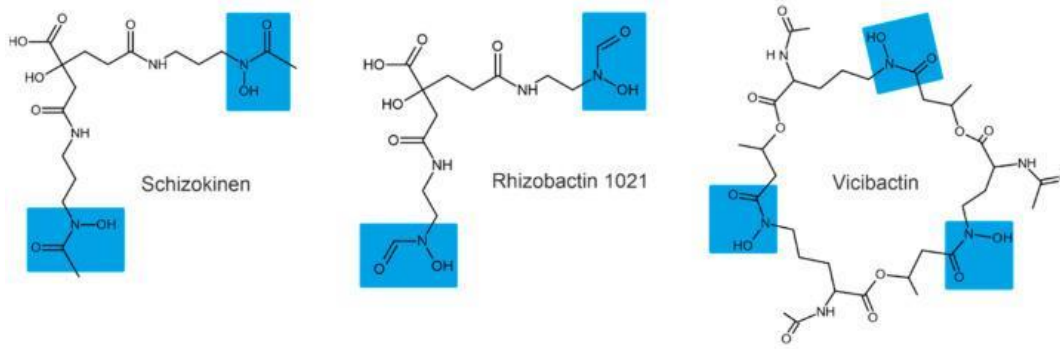
Şekil 1.2. Bir demir-siderofor kompleksinin Gram-pozitif bir bakteri hücresine taşınması (Raines, Sanderson, Wilde, Duhme-Klair, 2015).

Sideroforlar, mikroorganizmalar tarafından çok farklı kimyasal özellikte ve yüzlerce sayıda üretilmektedir (Ratledge and Dover, 2000). Sideroforların kimyasal yapısı, düzenleyici donör atomlarının düzenine ve sentezlendiği mikroorganizma çeşidine göre sınıflandırılırlar (Ghosh, Bera, Chakrabarty, 2020; Raines, Sanderson, Wilde, Duhme-Klair, 2015). Fe^{+3} -Siderofor kompleksi için oksijen ligandları baz alınarak sideroforlar hidroksomatlar, katekolatlar ve karboksilatlar olmak üzere üç ana sınıfa ayrılabilir (Şekil 1.3).



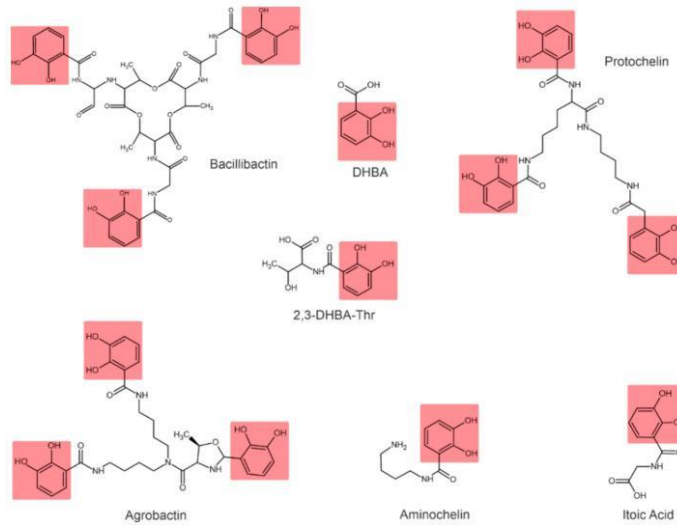
Şekil 1.3. Çeşitli sideroforların kimyasal yapıları.

Hidroksamat tipi sideroforlar, genellikle mantar ve bakterilerin ürettiği siderofor tipidir. Çoğunlukla $C(=O)N(OH)R$ grubuna ait olan hidroksamat tipi sideroforlarda R bir amino asittir. Hidroksamat gruplarından herbiri iki oksijen molekülü sağladığı için demir ile iki dişli ligant oluşumunu sağlar. Chasky kimyasal testi ile belirlenen spektro taramasında yüksek absorpsiyona sahiptirler ve demirle etkileşime girdiklerinde spektrometrede 425 ila 500 nm arasında değer gösterirler (Pahari, Pradhan, Nayak, Mishra, 2017) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Hidroksamat siderofor örnekleri: shizokinen, rizobaktin, visibaktin.

Katekolat tipi sideroforlar sadece bakteriler tarafından üretilir ve önemli siderofor gruplarından olup ikinci sırada yer alır. Katekolat tipi sideroforlar hidroksil ya da katekolat grupları ile Fe^{+3} iyonuna bağlanabilirler. Hidroksamat grubu gibi Katekolat tipi sideroforlar da iki oksijen atomu içerirler. Bu oksijenleri kullanarak Fe^{+3} 'ü şelatlayıp heksadentat-oktahedral kompleks oluştururlar (Ghosh, Bera, Chakrabarty, 2020). Katekolat tipi sideroforlar Arnow kimyasal testi ile belirlenebilir (Dave ve Dube, 2000) (Şekil 1.5).



Şekil 1.5. Katekolat tipi sideroforların örnekleri.

Karboksilat tip sideroforlar *Mucorales* gibi mantarlar ve *Rhizobium*, *Staphylococcus* gibi bakteriler tarafından meydana getirilir. Karboksilat tipi sideroforlar hidroksamat ve fenolat içermeyen sideroforlardır. Karboksilat türü sideroforların tespiti Vogels kimyasal testi ile yapılır (Dave ve Dube, 2000). Fe^{+3} bağlayabilmek için hidroksi ve karboksilat kullanarak Fe^{+3} -siderofor kompleksi elde ederler ve bunların çoğu karışık ligand grubuna aittir.

Çizelge 1.1. Bazı mikroorganizmalar tarafından üretilen siderofor tipleri.

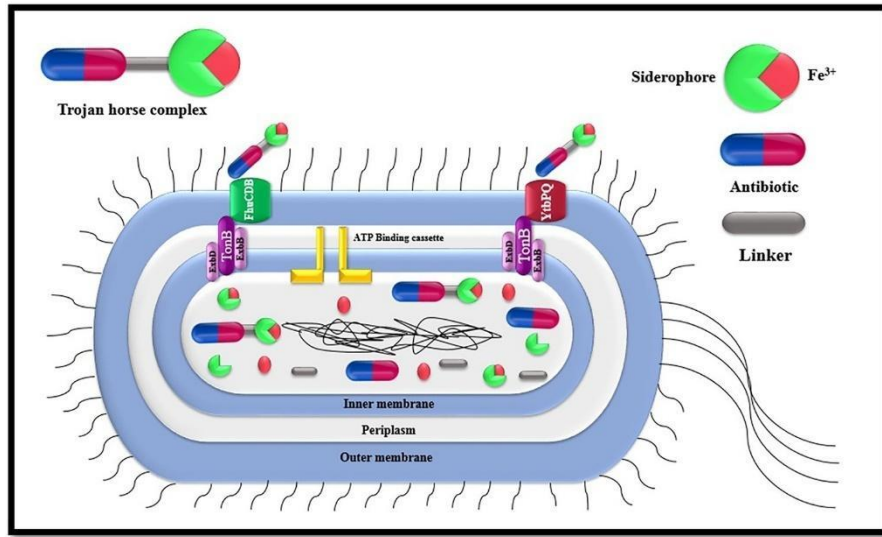
Sideroforun Kimyasal Tipi	Siderofor	Mikroorganizma
Hidroksammat	Ferrikrom	<i>Ustilago sphaerogena</i>
	Desferrioksamin B	<i>Streptomyces pilosus</i>
	Desferrioksamin E	<i>Streptomyces coelicolor</i>
	Fusarinin C	<i>Fusarium roseum</i>
	Ornibaktin	<i>Burkholderia cepacia</i>
Katekolat	Enterobaktin	<i>Escherichia coli</i>
	Bacillibaktin	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus anthracis</i>
	Vibriobaktin	<i>Vibrio cholerae</i>
Karboksilat	Rhizobaktin	<i>Rhizobium meliloti</i>
	Rhizoferrin	<i>Rhizopus microspores</i>
	Staphyloferrin A	<i>Staphylococcus hyicus</i>
Karışık Ligant	Azotobaktin	<i>Azotobacter vinelandii</i>
	Pyoverdın ve pyochelin	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Yersiniabaktin	<i>Yersinia pestis</i>
	Maduraferriin	<i>Acinomadura madurae</i>

1.1. Siderofor Üretimi Yapan Mikroorganizmalar

Sideroforlar Fe^{+3} ü şelatlayabilmek için bakteri, mantar, maya ve bitkiler tarafından üretilirler. Bakteriler metallerin bulunduğu ortamlarda çok sayıda yer alırlar ve ağır metallerle birleşerek ortamda sayıca artış gösterirler. Demirin Fe^{+3} halde bulunduğu ortamda bakteriler siderofor üretilip demir-siderofor kompleksi oluşturarak demiri şelatlarlar. Bu sideroforlar demirin hücre dışında çözünür duruma getirilip hücre içerisine alınmasında büyük ölçüde katkı sağlarlar. Çeşitli bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB), demir eksikliği olan koşullar altında siderofor üreten mekanizmaya sahiptir. Uygun koşullarda sideroforu sentezleyerek Fe iyonlarını şelatlayarak Fe iyonlarının kullanılabilir hale gelmesini sağlar. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler, siderofor üreterek demir biyoyararlanımına katkı sağlamış ve düzenlemiş olurlar (Timofeeva, Galyamova, Sedykh, 2022). Siderofor demir eksikliği olan ortamda *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* gibi çokça bakteri tarafından üretilirler (Neilands, 1995; Glick, Patten, Holguin, Penrose, 1999). Mantarlar da bakteriler kadar çok sayıda siderofor üretimine sahiptir. Mantarlar karboksilat ve hidroksammat tipte siderofor üretirler (Holinsworth ve Martin, 2009). Siderofor üreten mantarlardan bazıları *Aspergillus nidulans*, *Trametes versicolor*, *Penicillium chrysogenum*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Ustilago sphaerogina*, *Rhodotorula minuta* 'dır.

1.2.Sideroforların Kullanıldığı ve Fayda Sağladığı Alanlar

Mikrobiyal sideroforlar, demirin fizyolojik aktivitelerdeki gerekliliğinden dolayı büyük öneme sahiptir. Sideroforların biyoteknolojideki uygulamalarda rolü vardır. Ayrıca insanlar, hayvanlar, bitkiler ve çevrenin sürdürülebilirliği için birçok uygulamalarda görev alır. Demirin yetersiz olduğu koşullarda doğal olarak oluşan metal şelatlayıcı sideroforlar, tıpta bazı klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (Eisendle ve diğerleri, 2006). Örneğin; *Klebsiella pneumoniae*'nin ürettiği sideroforlar, sıtmayı engelleyen bir ürün olarak kullanılmıştır. Ayrıca bakterilerde antibiyotiklere karşı antimikrobiyal direncin artması ile geliştirilen ‘Truva atı’ stratejisi sayesinde siderofor antibiyotik konjugatları yaparak dirençli ve çoklu ilaca dirençli gram negatif basillere karşı güçlü antibiyotik-siderofor konjugatları oluşturulmuştur (Rayner, Verderosa, Ferro, Blaskovich, 2023) (Haşii, Mahmudi, Muhammedzadeh, 2021) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6. Truva atı stratejisi. (Haşii, Mahmudi, Muhammedzadeh, 2021)

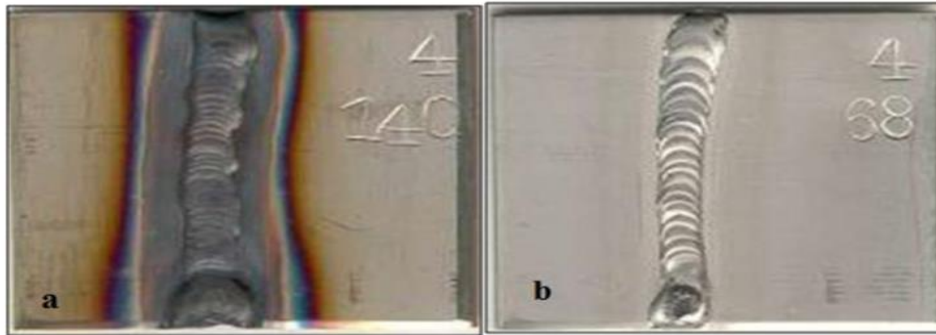
Sideroforlar tarım alanında da birçok kısımda yer alırlar. Rizosferik bakteriler, hidroksamat ve katekolat tipi siderofor üretirler ve bu üretilen sideroforların bitki patojenlerine karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Carrillo-Castañeda, Munoz, Peralta, 2005; Vessey, 2003). Sideroforlar bitki üzerinde doğrudan etki ederek büyümelerine katkı sağlarlar.

Azotobakter ve *Pseudomonas* bakterileri; ürünlerin kalite ve veriminin artışı konusunda tarım uygulamalarında ayrıca tuzluluk kaynaklı kuraklık, endüstriyel atıklara bağlı kirlenmiş toprakların tarım açısından daha işlevsel duruma getirilmesinde ve bitki

patojenlerine karşı savunma benzeri biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilecekleri tespit edilmiştir (Cornelis, Matthijs, 2007; Couillerot, Prigent-Combaret, Caballero-Mellado, Moënne-Loccoz, 2009).

Sideroforlar, pas giderme, boya bozunması, ağır metal birikimi vb. çevre sorunlarının çözümü konusunda olduğu gibi çevresel uygulamalarda birçok katkısı bulunmaktadır. Pas genellikle Fe_2O_3 moleküllerinden meydana gelir. Geleneksel yöntemlerde sırasıyla iki pas giderici yöntem uygulanır: pasın dönüştürülmesi ve bulunduğu cisimden ayrıştırılması gerekmektedir. Bakteriler, mantarlar ve bitkiler, Prof. Dr. Peter M. Kunz'un (2005) Mannheim Üniversitesi uygulamalı bilimler bölümünde yaptığı bir çalışmada sideroforların pasın çözülmesi üzerine etkisini çalışmıştır. Çalışmanın sonucunda sideroforların doğal pas çözücü ve diğer pas çözücülere göre çevre dostu olduğu tespit edilmiştir.

Birçok bakteri türünden alınan sideroforlar ile yapılan bu çalışmada içerisinde demir bulunan sanayi materyalleri kullanılmıştır. Sonuç olarak sideroforların pas giderimini sağlayan özelliklerinin olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada desferoksamin tipi sideroforlar kullanılmıştır (Kunz, 2005)(Şekil 1.7).



Şekil 1.7. Sideroforlar aracılığı ile pas giderimi (Kunz, 2005).

Yapılan bu çalışma ile toprakta önemli derecede siderofor üreten bakteriler izole edilerek bitki patojeni iki fungusa karşı biyokontrol özellikleri incelenmiştir.

2. LİTERATÜR

Siderofor ile ilgili bu kısımda sideroforun ilk keşif sürecinden günümüze kadar ki zaman diliminde gerçekleştirilen çalışmaların araştırılıp kendi çalışmalarımızla benzerlik gösteren çalışmaların daha çok dikkate alındığı literatür taramasına yer verilmiştir.

Siderofor alanındaki araştırmalar 1950'li yıllarda başlamıştır ve siderofor üreten mikroorganizmaların çoğunun aerobik ve fakültatif anaerobik mikroorganizmalardan oluşması tespit edilince bu alana olan ilgi artmıştır. Mikobaktinler ve ferrikromlar tespit edilen ilk sideroforlardandır. Bu sideroforlar tespit edildikleri mikroorganizmalar tarafından büyüme faktörleri olarak tanımlanmıştır. 1980'li yıllarda standart siderofor tanımlanma deneyleri bakteriyel demir taşıma sistemlerini araştırmak için uygulanmış ve geliştirilmeye başlanmıştır.

Neilands ve Leong (1976) tarafından yapılan çalışmada enterik bakterilerden olan *Escherichia coli* K-12 ve *Salmonella typhimurium* LT-2'de siderofor mekanizmalarını incelemeye yönelik çalışmalar yapılmış, siderofor taşınımı için en az farklı mekanizmanın etkili olacağı öne sürülmüştür.

Charlang (1981), *Aspergillus nidulans* ve *Penicillium chrysogenum*'un üzerinde yaptığı bu çalışmada bilinen ortamdaki sideroforlar dışında belirli hücrel sideroforlar ürettiklerini ve bu sideroforların da demir alımında görev aldığını tespit etmiştir. *A. nidulans*'ın hücrel sideroforu ferrikrosin, *P. chrysogenum*'unki ise ferrikrom olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca *A. nidulans*'ın biyolojik olarak aktif olmayan siderofor ürettiğini ve bu sideroforun triasetilfusigen olduğunu belirlemiştir.

Neilands'a (1993) ait bu çalışmada siderofor, mikrobiyal türlerde yaygın olarak bulunan demir sekresyonunda ve taşınmasında görev alan ferrik-spesifik ligandlar olarak tanımlanmıştır. Sideroforların insan, hayvan ve bitkiler için patojenik olan mikroorganizmalar ve *E. coli*'nin klinik izolatları için bazı virülans silahlarına ait bir bileşeni olabileceği öne sürülmüştür.

Payne (1994) yaptığı bu çalışmada sideroforların düşük molekül ağırlıklı yüksek afiniteli ferrik demir şelatlayıcıları olduğunu tespit etmiştir. Sideroforların demir yoksunluğunda

birçok mikroorganizma tarafından sentezlendiğini ve salgılandığını belirlemiştir. Siderofor sınıflandırılması yapmış, hidroksamat ve fenolatlar-katekolat sınıflarına dahil olmayan siderofor tespiti de yapmıştır. Sideroforları tespit etmek, izole etmek ve karakterize etmek için çeşitli teknikler geliştirmiştir.

Neilands (1995) yaptığı çalışmada sideroforların bakteri, bitki gibi organizmalar tarafından ihtiyaç duyulan demiri sağlamak için siderofor adlı düşük moleküler ağırlıklı şelatlayıcı ajanlar ürettiklerini tespit etmiştir. Sideroforların, görevinin çevreden demir toplamak ve canlı için önemli derecede ihtiyaç olan mineralleri mikrobiyal hücreler için aktif hale dönüştürmek olduğuna ulaşmıştır. Sideroforların bitki ve hayvanlar için patojenik mikroorganizmaların virülans mekanizmalarıyla bağlantılı olduğunu düşünmüştür. Ayrıca, sideroforların klinik uygulamalarda kullanıldığını ve tarımda da önemli bir yere sahip olduğunu tahmin etmiştir.

Crowley (2000) yaptığı çalışmada sideroforların bitkiler için önemini ve rizosfer kısmındaki işlevini araştırmıştır. Sideroforların bitki rizosferindeki mikroorganizmaların ekolojisi için de önemli olduğunu öne sürmüştür. Sideroforların besin rekabetinde yer almasının bitki hastalıklarının baskılanmasında büyük öneme sahip olduğunu tespit etmiştir. Besin zinciri transferinin kolaylaşmasında ve ağır metal alımında önemi anlaşılan sideroforların incelenmesinin popüler düzeyde olduğunu belirtmiştir.

Renshaw ve diğerleri (2002) tarafından yapılan araştırmada mantarların ürettiği sideroforların kimyasal ve biyolojik yapıları, işlevleri ve uygulama alanları araştırılmıştır. Mantarlar tarafından üretilen sideroforların çoğunun hidroksamat grubuna ait olduğu belirlenmiştir. Sideroforların, özellikle aktinitlerin, demir dışındaki metallerle kompleks oluşturabildiği ve bu sayede tıpta, nükleer yakıt yeniden işlenmesinde, metale kaynaklı kirlenmiş alanların iyileştirilmesinde ve endüstriyel atıkların arıtılmasında görev aldığı tespit edilmiştir.

Miethke ve Marahiel (2007) yaptıkları bu çalışmada siderofor bağımlı yollar aracılığıyla patojenik ve patojenik olmayan bakteri ve mantarların çoğunda yüksek afiniteli demir ediniminin gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Siderofor yollarının düzenlenmesinde transkripsiyonel ve transkripsiyon sonrası çok katmanlı ağların ortaya koyulduğunu belirlemişlerdir. Sideroforların virülans sırasında önemli rolleri olduğunu belirterek bu

sebepten ötürü, birlikte evrim, memelilerin siderofor nötralizasyonu ve bakteriyel patojenlerin (yeniden) kullanımı için karmaşık stratejiler oluşturduğunu bulmuşlardır. Sideroforun demir iletiminin, konakçılar için tanı ve tedavi çalışmalarında önemi olduğunu tespit etmişler, enfeksiyon ve diğer hastalıklar için demir bağımlı tedavilerde potansiyel tedavi edici olduğuna ulaşmışlardır. Çeşitli siderofor-antibiyotik konjugatlarının "Truva atı" toksinleri ve siderofor yolu inhibitörlerinin patojen inhibüsyonunu gerçekleştirdiğini tespit etmişlerdir.

Güney (2014) bu çalışmada *Bacillus sp.* türlerinde siderofor üretimi ve *Bacillus cereus* DSM 4312'nin siderofor üretiminin optimizasyonunu amaçlamıştır. *B. Cereus* DSM 4312 Arnow testi sonucunda katekol tipi siderofor olduğu ve maksimum siderofor üretiminin 1M FeCl₃ varlığında 48. Saatte %35,2 olarak tespit etmiştir. Genel olarak siderofor üretimi için pH 6.5, optimum sıcaklık 37 °C olarak bulmuştur. *B. Cereus* DSM 4312'nin siderofor üretiminde çevresel faktörlerin etkili olduğu, bilindiği kadarıyla, ilk bu çalışmada tespit etmiştir.

Aydın (2014) tarafından yapılan bu çalışmada *Brevibacillus laterosporus* türünün siderofor üretimi ve çeşitli metallerin (Fe, Co, Ni, Hg) siderofor üzerine etkisi araştırılmıştır. *B. laterosporus*'un ürettiği sideroforun katekolat tipi olduğu tespit edilmiştir. *B. Laterosporus* tarafından siderofor üretiminin en yüksek olduğu zaman 48. saat olarak belirlenmiştir. Ağır metal iyonlarının varlığında farklı oranlarda en yüksek miktarda siderofor üretimi gözlenmiş ve bu durum sideroforların ağır metallerle etkileşim halinde olduğunu göstermiştir.

Avşar (2017) yaptığı bu çalışmada yabani baklagil bitkilerinden izole edilen *Rhizobium spp.* türlerinin siderofor üretimi incelenmiştir. 56 adet elde edilen izolatların 50 tanesinin siderofor ürettiği bilgisine ulaşmıştır.

Körçoban (2020) yaptığı bu çalışmada topraktan izole edilen *Bacillus spp.* türü bakterilerin siderofor optimizasyonunu araştırmıştır. Optimizasyona yönelik olarak incelediği izolatlarda siderofor üretim potansiyellerinin farklı sıcaklık, pH, biyomas miktarı, karbon kaynağı ve zaman parametresine göre değerlendirmiştir. *Bacillus pumilus*'ta 44/1 en yüksek miktarda siderofor üretimini gerçekleştirdiğini ve bu değerin % 47,8 olduğunu

tespit etmiştir. *Bacillus pumilus* 44/1 siderofor üretimi için optimum değerlerin 30°C, pH 5.2, 1M melas varlığında, 1.5/100 oranında inoküle edildiğinde 48 saat olarak belirlemiştir.

Atbaş (2022) çeşitli tek yıllık bazı kültür ve yabanıl bitkilerinin sağlıklı kök, gövde ve yaprak örneklerinden izole ettiği endofit bakterilerdeki siderofor üretim potansiyelini araştırmıştır. Ayrıca izolatların ağır metal stres altında siderofor üretimini incelemiştir.

Çobanoğlu'nun (2023) yaptığı bu çalışmada toprak ve gıda kaynaklı örneklerden izole edilen *Bacillus* türlerinin siderofor üretimi ve optimizasyonunu araştırmıştır. Çalışmasında izole edilen Adana *Bacillus subtilis*, Kırklareli *Bacillus amyloliquefaciens* ve Elazığ *Bacillus cereus* 'un ait siderofor üretimleri belirlemiş ve kontrol bakterisi olarak kullanılan *Pseudomonas* spp. bakterilerinin siderofor üretme miktarı ile karşılaştırmıştır. Siderofor üretmeleri birbirine denk çıkan bakterilerin bitki koruma ürünlerinde ve tarımsal uygulamalarda da kullanılabirliğini tespit etmiştir.

3. YÖNTEM

Topraktaki bakterilerden sideroforların üretme potansiyelini belirleyebilmek için *in vitro* ortamda öncelikle topraktan bakteri tayini yapıldığı ve bu bakterilerin siderofor üretim durumunu incelendiği çalışma sürecine bu kısımda yer verilmiştir. Ayrıca siderofor üretimi gerçekleştiren bakterilerin biyokontrol etkilerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalara ve bu çalışmalarda kullanılan besiyerlerinin hazırlanma aşamaları da bu kısımda bahsedilmiştir.

3.1. Materyal

Bu çalışmada, Amasya ilinin farklı bölgelerinden alınan topraklardan siderofor üreten bakteriler izole edilerek tez çalışmasında materyal olarak kullanılmıştır. Kullanılan toprakların bir kısmının görüntüsü Resim 3.1’de gösterilmiştir.



Resim 3.1. Amasya ilindeki farklı bölgelerden alınarak laboratuvara getirilen toprak örnekleri

3.1.1. Kullanılan Besiyerleri

Bu çalışmada siderofor üreten bakterilerin izolasyonu ve bu bakterilerin *in vitro* ortamda biyokontrol etkilerinin belirlenmesi amacıyla kullanılan besiyerleri ve hazırlanma aşamaları verilmiştir.

Nutrient Agar

Topraktaki bakterilerin izolasyonu, saflaştırması ve stok kültür şeklinde saklanması için kullanılmıştır. Nutrient Agar(Merck) besiyeri pepton (5 g), et özütü (5 g), maya özütü (1 g) ve agar (12 g)'dan oluşmakta olup ticari olarak satın alınmıştır. Bu çalışma için 28.0 g/L olacak şekilde hazırlanarak, 121°C'de 15 dakika otoklav yapılmasından sonra 9 cm çapındaki steril petri kaplarına yaklaşık 15 ml dökülmüştür.

Nutrient Broth

Nutrient Broth(Merck) besiyeri; pepton (5 g), et özütü (3 g)'nden oluşmakta olup ticari olarak satın alınmıştır. Bu besiyeri kültüre alınmış mikroorganizmaların geliştirilmesi için kullanılmıştır. Bu çalışma 8.0 g/L olacak şekilde hazırlanan besiyeri 12 ml'lik cam tüplere 10 ml eklenerek 121°C'de 15 dakika otoklav yapılmıştır.

Patates Dekstroza Agar (PDA)

Fungus izolasyonunda ve bakterilerin funguslara karşı biyokontrol aktivitelerini belirlemek için kullanılan bir besiyeridir. Patates Dekstroza Agar besiyeri (PDA); glikoz (20 g), patates infüzyonu (4 g) ve agar (15 g)'dan oluşmakta olup ticari olarak satın alınmıştır. Ekim yapılacak petri sayısına göre besiyeri miktarı 39.0 g/L olacak şekilde hazırlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklav yapılarak 50°C'ye soğutulmuş ardından 9 cm çapa sahip steril petrilere yaklaşık 15 ml dökülmüştür.

Chrome Azurol Sulfonate (CAS) Agar

Bu besiyeri siderofor üreten bakterilerin belirlenmesi amacı ile aşağıda verilen yönteme göre hazırlanmıştır. Besiyerinin hazırlanma kullanılan çözeltiler ve solüsyonlar kullanılmadan önce 121°C'de 15 dakika otoklav yapılmıştır.

A. CAS solüsyonu:

- a) 0.06 g CAS (Fluka Chemicals), 50 mL steril distile su (ddH₂O) içinde çözülmüştür.
- b) 0.0027 g FeCl₃-6H₂O, 10 mL (10 mM) HCl içinde çözülmüştür.

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

Solüsyon a'nın tamamı ile solüsyon b'nin 9 mL'i karıştırılmış sonrasında karışıma solüsyon c de eklenmiştir. Hazırlanan karışım 121°C'de 15 dakika otoklav yapıldıktan sonra cam şişede saklanmıştır.

B. Minimal tuz ortamı (MM9):

15 g KH₂PO₄, 50 g NH₄Cl ve 25 g NaCl birbiri ile karıştırılıp sonrasında 500 ml steril distile su içerisinde çözülmüştür.

C. %20'lik Glikoz Solüsyonu:

20 g glikoz 100 mL steril distile su içinde çözündürülmüş, filtre ile sterilize edilerek % 20'lik glikoz çözeltisi hazırlanmıştır.

CAS agar'ın hazırlanması:

100 mL MM9 stok solüsyonu, 750 mL ddH₂O'ya eklenmiştir. Sonrasında hazırlanan karışım içerisine 32.24 g piperazin-N, N'-bis (2-etansülfonik asit) (PIPES) ilave edilmiştir. PIPES pH 5' in altında çözünme gerçekleştirmediği için pH'ın 6'ya yükseltilmesi gerekmektedir. Bunun için karışıma yavaş yavaş pH 6 olana kadar NaOH eklenmiştir. PIPES çözüldükçe pH düşerek çözeltinin berraklaşmasını sağlamıştır ve pH 6.8'e sabitlenmiştir. Tamamen çözünmüş durumdaki MM9/PIPES karışımına 15 g Bacto Agar eklenerek sonrasında otoklav yapılmıştır. 50°C'ye kadar soğutulmuş MM9/PIPES karışımına; 30 mL steril casamino asit çözeltisi (eser miktardaki demiri uzaklatırmak için 3 g casamino asit 27 mL steril ddH₂O ve filtre ile sterilize duruma getirilmiştir) ve 10 mL steril %20 glikoz çözeltisi eklenmiştir. Karışıma 100 mL CAS solüsyon (A) cam duvardan köpük olumuşuna müsaade etmeden yavaşça eklenerek karıştırılmış sonrasında aseptik şekilde petri kaplarına dökülmüştür (Resim3.2).



Resim 3.2. CAS Agar'ın hazırlanıp petrilere dökülmesi

3.2. Metod

Toprakten bakteri izolasyonunun ve izole edilen bakterilerin siderofor tayini aşamalarının bahsedildiği bu kısımda, siderofor üretimi gerçekleştiren bakterilerin biyokontrol etkilerinin tespiti için yapılan çalışmalara da yer verilmiştir.

3.2.1. Toprakten bakteri izolasyonu

Farklı alanlardan alınarak laboratuvara getirilen 15 adet toprak örneklerinin her biri havanda dövüldükten sonra 5'er gram alınarak 95 mL fizyolojik tuzlu su (%0.85 NaCl) içerisinde 125 dev dak⁻¹ 'da 30 dakika çalkalayıcıda çalkalanmıştır (Resim 3.3).



Resim 3.3. Toprak numunelerinin bakteri izolasyonu için hazır hale getirilmesi

Çalkalama işleminin ardından toprak örneklerinin bulunduğu sıvı örneklerinden 1'er ml alınarak içinde 9 ml fizyolojik tuzlu su bulunan 12 mL'lik tüplere aktarılmıştır. Tüp karıştırıcıda tekrar karışım yapıldıktan sonra bu şekilde 10 katlık dilüsyon serileri hazırlanmıştır. 10⁻⁵ ve 10⁻⁶ dilüsyon serilerinden 100 µl alınıp NA besiyeri bulunan

petrilere drigalski spatülü yardımı ile yüzeysel yayma ekimi yapılmıştır. Ekim işleminden sonra petrilere 48 saat 30°C’de inkübe edilmiştir (Resim 3.4).



Resim 3.4. Bakterilerin izolasyonu

İnkübasyon sonrasında kolonilerin morfolojik olarak değerlendirmesi yapılarak numaralandırılmıştır. Farklı morfolojik yapıdaki izolatlar 10 ml Nutrient Broth bulunan tüplere iğne öze kullanılarak tüplerin herbirine ekimleri yapılmış ve sonrasında 24 saat 27°C’de inkübasyonda gelişmeye bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası izolatlar eşit oranda %30 lik gliserol çözeltisi ile karıştırılarak ependorf tüplerinde bir sonraki çalışmalarda kullanmak için -20°C’de saklanmıştır.

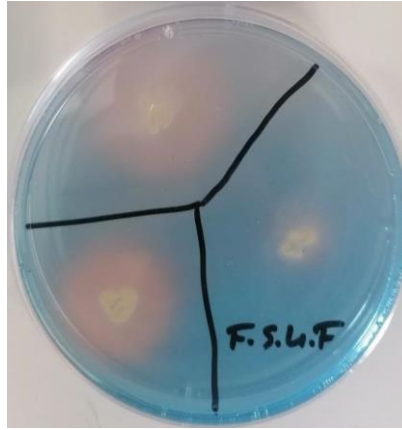
3.2.2. Siderefor üreten bakterilerin belirlenmesi

Siderofor üreten bakterilerin tespiti için stoklanan bakteriler NA besiyerine çizgi ekim yöntemi ile ekilerek gelişme gösteren bakteriler steril kabin içerisinde kürdan yardımı ile alınarak CAS Agar içeren petrilere birbirine eşit uzaklıkta üç noktaya nokrasal ekim yöntemi ile ekim yapılmıştır ve petrilere 27°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.5).



Resim 3.5. CAS Agar besiyeri içeren petrilerinin numaralandırılması

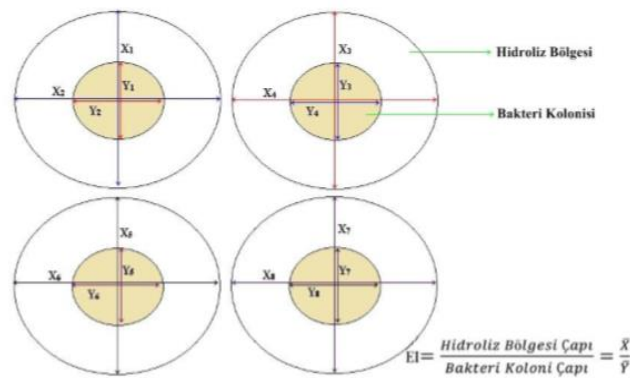
İnkübasyon süresi sonunda CAS Agar besiyeri içeren petrilerde gelişme gösteren bakterilerin koloni çevresinde turuncu renkli zonların oluşması siderofor üretiminin gerçekleştiğini göstermektedir. Ekimi yapılan her bir bakterinin turuncu zon oluşturup oluşturmadığı tespit edilmiş siderofor kaynaklı oluşan turuncu zonların çapı kumpas ile ölçülmüş ve ardından petrilerin fotoğraflaması yapılmıştır (Resim 3.6).



Resim 3.6. Bakterilerin koloni çevresinde siderofor ürettiğini gösteren zon

3.2.3. Siderofor üretme indekslerinin hesaplanması

CAS Agar besiyerinde gelişen izolatların koloni çevresinde oluşan sarı zon çapı ile koloni çapının birbirine oranlanması ile her bir bakteri izolatının siderofor üretme indeksi hesaplanmıştır (Carrim, Barbosa, Vieira, 2006; Jena, Rah, 2013; Dogan, Taskin, 2021). Elde edilen değerler sonucunda bakteri izolatların siderofor üretme seviyeleri birbirleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Siderofor üretme indekslerinin hesaplanması (Doğan ve Tan, 2021)

3.2.4. Topraktan fungus izolasyonu

Amasya ilinin farklı bölgelerinden alınan ve bakteri izolasyonunda kullanılan toprak örneklerinden fungus izolasyonu yapılmıştır. Yapılan çalışmada toprak örneğinden 10'ar gram alınarak, 90 mL %0.9 NaCl izotonik çözelti içerisinde 25 dakika 120 rpm'de çalkalanmıştır. Süre sonunda bakteri izolasyonuna benzer şekilde dilüsyon serileri hazırlanmıştır. Fungus izolasyon işleminde kullanılan PDA besiyeri hazırlanarak 121°C'de 15 dk otoklavlanmış ve 50°C'ye soğutulmuştur. Soğutulmuş PDA besiyeri steril kabin içerisinde steril petrilere dökülmüştür. PDA besiyerine bunzen beki alevi önünde 100 µL dilüsyon örneklerinden alınarak besiyerine yüzeysel yayma ekimi yapılmış ve petriler 28°C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır (Özcan, 2014). İnkübasyon tek koloni olarak gelişenleri seçilerek saflaştırılmıştır (Bektaş, 2017). Fungusların tür tayini ise mikroskopik gözlemlere göre yapılmıştır.

3.2.5. Bakteri izolatlarının biyokontrol özelliklerinin belirlenmesi

Topraktan izole edilen bakterileri izolatlarının patojen olduğu belirlenen iki fungus türüne karşı biyokontrol aktiviteleri belirlenmiştir. Fungus türlerinden olan *Fusarium oxysporium* ve *Alternaria alternata* PDA besiyerinde taze kültürleri hazırlanmıştır. Antifungal aktivite testi için 500 ml'lik PDA besiyeri hazırlanarak 121°C'de 20 dk otoklavlanmış ve 50°C'ye soğutulmuştur. Steril kabin içerisinde PDA besiyeri steril petrilere 15 ml dökülmüştür. Petrilerin tam ortasına 10 mm çapındaki fungus kültürleri yerleştirilmiştir. Fungus kültürleri bulunan petrilere kürdan yardımı ile eşit uzaklıkta 4 farklı noktaya 3 tekerrür olacak şekilde izole edilen bakteriler nokta ekim yöntemi ile ekimi yapılmıştır. Petriler 28°C'de 10 gün boyunca inkubatörde gelişmeye bırakılmıştır. Kontrol petride ise herhangi

bir mikroorganizma ekimi yapılmamıştır. Süre sonunda fungus yarıçapları ölçülerek aşağıdaki formüle göre her bakterinin % engelleme oranları hesaplanmıştır (Şekil 3.2).

$$\% \text{ Engelleme} = \frac{\left\{ \begin{array}{c} \text{Negatif kontrol fungus} \\ \text{yarıçapı} \end{array} \right\} - \left\{ \begin{array}{c} \text{Bakteri inokülasyonu} \\ \text{yapılmış yarıçapı} \end{array} \right\}}{\text{Negatif kontrol fungus yarıçapı}} \times 100$$

Şekil 3.2. Topraktan izole edilen bakteri izolatlarının *in vitro* ortamda fungusa karşı biyokontrol değerinin hesaplanmasında uygulanan formül

3.2.7. MALDI- TOF MS cihazı ile mikroorganizma türlerinin tanınması

Sidrefor üretme özelliğine sahip ve aynı zamanda ik fungus türüne karşı biyokontrol özelliği gösteren 5 bakteri izolatının tanınması için Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry, Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) mikroorganizma tanılama cihazı kullanılmış ve tanımlama yapılmıştır. MALDI-TOF MS son yıllarda mikrobiyolojik tanılamada hızlı ve güvenilir olan matriks yardımcı lazer desorpsiyoniyonizasyon uçuş süreli kütle spektroskopi cihazıdır (Ahmad ve diğerleri, 2012; Pavlovic ve diğerleri, 2012). Analiz sonucunda, yüksek olasılıklı tür teşhisi; 2.000-3.000 (yeşil renk), cins düzeyinde ve muhtemel tür düzeyinde teşhis; 1.700-1.999 (sarı renk) arasındaki skala değerleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Uysal, Kurt, Soylu, Kara ve Soylu, 2018).

3.2.8. İstatistikî analiz

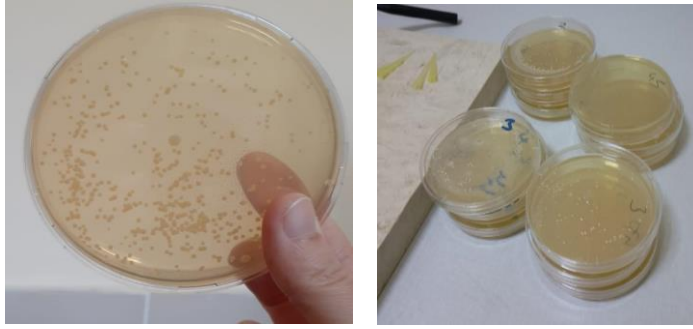
Bu çalışmada bakteri izolatlarının siderofor üretme indeksinin ve funguslara karşı % engelleme gösteren bakteri izolatlarından elde edilen değerlerin analizi için SPSS 24(Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılmıştır. İzolatlar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

İn vitro ortamda yapılan bakteri izolasyonu ve izole edilen bakterilerin siderofor üretim indekslerinin hesaplanması sonucu elde edilen bulguların yer aldığı bu kısımda biyokontrol özelliklerin de tespiti ve iki farklı fungus türüne karşı misel gelişimini engelleme oranları yer almaktadır.

4.1. Bakteri İzolasyonu

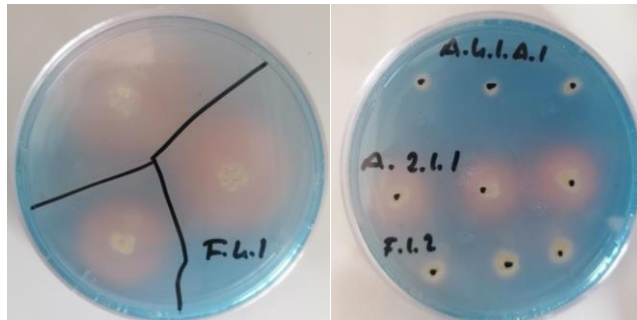
Amasya ilinin farklı bölgelerinden alınarak laboratuvara getirilen topraklardan izole edilen farklı morfolojik özelliğe sahip 72 bakteri izolatu seçilmiştir (Resim 4.1).



Resim 4.1. Bakteri izolatlarının Nutrient Agarda gelişmesi.

4.2.Siderofor Üreten Bakterilerin Tespiti

Bakterilerin Siderofor üretme potansiyelleri CAS Agar besiyerinde belirlenmiştir. İzolatların besiyerine üç tekerrürlü olarak nokta ekimi yapılarak 7 günlük inkübasyon sonrası bakteri izolatları çevresinde turuncu-sarı renkte zon oluşturanlar, siderofor üretimi bakımından pozitif olarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirme sonucunda toprak bakterilerinden 72 izolatın 18'sinde siderofor üretimi gerçekleştiği tespit edilmiştir (Resim 4.2).



Resim 4.2. F.4.1 ve A.2.1.1. kodlu izolatların siderofor üretimini gösteren turuncu zon

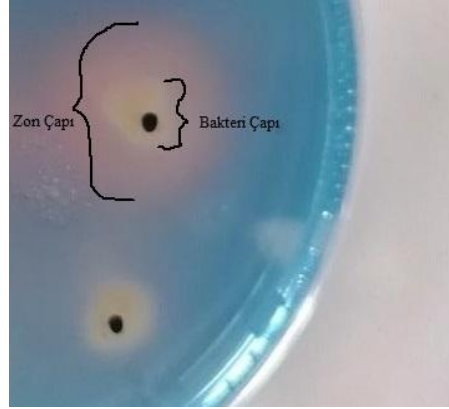
4.3. Bakterilerin Siderofor Üretme İndekslerinin Hesaplanması

CAS Agar besi ortamı kullanılarak bakteri izolatlarının siderofor üretme potansiyelleri belirlenmiştir. Besiyerinde oluşan zon çapının koloni çapın oranlanması ile herbir izolatın siderofor üretme potansiyeli belirlenmiştir (Resim 4.3). Yapılan hesaplamada izolatlar arasında siderofor üretme indeksinin 1.2-4.3 arasında olduğu belirlenmiştir. En yüksek düzeyde siderofor üreten izolatın 4.3 ile F54F kodlu bakteri izolatı olduğu tespit edilmiştir. En düşük siderofor üretme indeksine sahip izolat ise 1.2 ile A211 kodlu bakteri izolatı olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistikî analizde izolatların siderofor üretme indeksleri arasında istatistikî olarak farklılıklar olabileceği belirlenmiştir ($p \leq 0.05$). İzolatların siderofor üretme indeksleri hesaplanması ve istatistik olarak birbirleri ile karşılaştırılmaları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Topraktan izole edilen bakteri izolatların siderofor üretme indekslerinin karşılaştırılması

Bakteri İzolatları	Siderofor Üretme İndeksi±Standart hata	Bakteri İzolatları	Siderofor Üretme İndeksi±Standart hata
F653	2,8±0,05 ^{cde}	F643	2,5±0,18 ^{bcd}
F633	2,5±0,15 ^{bcd}	F23	3±0,32 ^{de}
F652	2,1±0,21 ^{bcd}	F22	3,4±0,77 ^{ef}
F642	2,5±0,29 ^{bcd}	F24F	2,6±0,18 ^{cde}
F41	3,2±0,18 ^{de}	F11	3,1±0,14 ^{de}
D42A1	1,7±0,04 ^{abc}	F55	3,5±0,55 ^{ef}
A211	1,2±0,03 ^a	D42A1	2,5±0,62 ^{bcd}
A132	2,7±0,32 ^{cde}	F54F	4,3±0,37 ^f
D651	1,4±0,09 ^{ab}	F13	2,8±0,53 ^{cde}

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

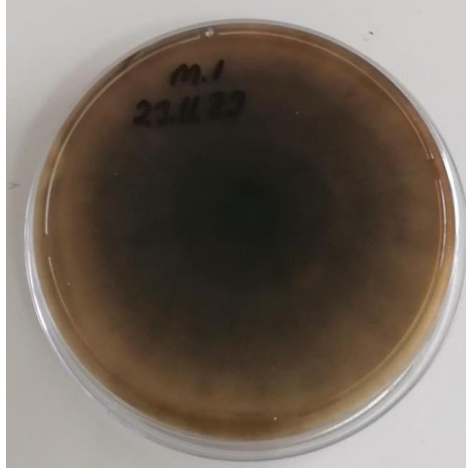


Resim 4.3. A.2.1.1 kodlu izolatın CAS besiyerinde gelişimi ve oluşturduğu zon

Karakaş ve arkadaşları (2022), *Alyssum pinifolium* bitkisinin köklerindeki topraklardan izole ettikleri 21 bakterinin siderofor üretme özelliklerini incelemiştir. Bakteri cinslerinin *Bacillus*, *Priestia* ve *Brachybacterium* olarak belirlenen çalışmada bakteri zon çapları 11 mm ile 21 mm arasında tespit edilmiştir. Siderofor üretiminin en yüksek olduğu izolat 2NB13 (*B. toyonensis* NMCC-157) olarak belirlenmiş zon çapı 21 mm ölçülmüştür. Li ve ark. (2017) yaptığı çalışmada ise topraktan izole edilen 3 bakteri izolatının zon çapları sırası ile 3.5, 5.2 ve 0.3 mm ölçülmüştür. Yaptığımız çalışmada ölçümler sonucunda izolatların 3.0 mm ile 3.75 mm arasında zon çapı oluşturdukları gözlemlenmiştir. Literatür çalışmalarında tespit edilen zon çapları ölçümlerine göre araştırmada kullandığımız bakterilerden bazılarında literatürdeki çalışmalara göre daha yüksek siderofor üretimi, bazılarında ise daha düşük siderofor üretimi gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu duruma sebep olan faktörün bakteri türlerinin farklı olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

4.4.Topraktan Fungus İzolasyonu

Topraktan yapılan fungus izolasyon işleminde bitki patojeni fungus türlerinden olan *Fusarium oxysporum* ve *Alternaria alternata* izolatlarının izolasyon yapılarak, saflaştırma işleminin ardından PDA besiyeri ekimi yapılarak, 27 °C de 10 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Fungusların tür teşhisleri Mikroskopik gözlemlere dayalı yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda funguslar gelişme göstererek yapılan çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C saklanılmıştır (Resim 4.4; 4.5).



Resim 4.4. *Alternaria alternata* 'nın saflaştırılması işleminden sonra petride gelişimi



Resim 4.5. *Fusarium oxysporum*'un saflaştırılması işleminden sonra petride gelişimi

4.5. Bakteri İzolatlarının Biyokontrol Özelliklerinin Belirlenmesi

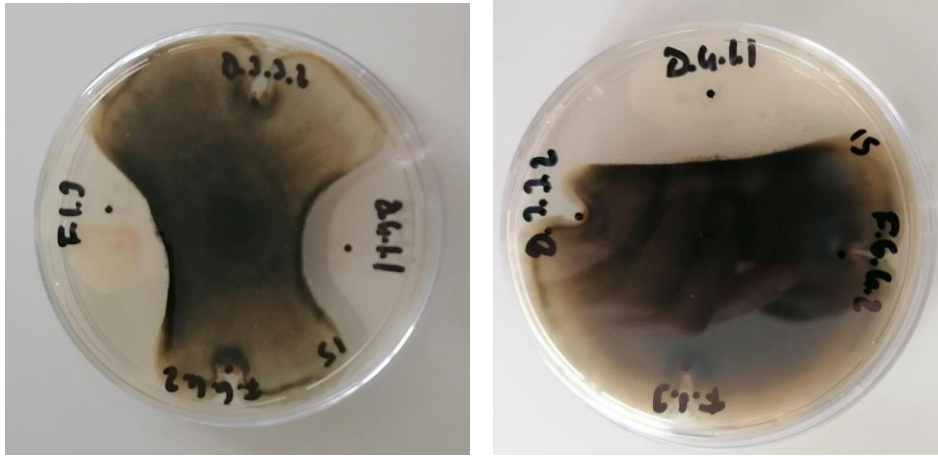
Topraktan izole edilen bakteri izolatlarının fungus türlerine karşı biyokontrol özelliklerin belirlenmesi, PDA besiyerinin tam ortasına ekim yapılmış fungus türünün gelişmesini engellemesi durumuna göre yapılmıştır. Yapılan çalışmada *Alternaria alternata*'ya karşı 72 izolatın 38'si, kontrole göre misel gelişimini %42,5-80 arasında değişen oranlarda engelleyerek biyokontrol özelliği göstermiştir (Resim 4.6). İzolatların etkinliklerinin belirlenmesinde % engelleme formülü kullanarak yapılan değerlendirmelerde, *A. alternata*'ya karşı kontrole göre %80 ile en yüksek oranda engelleme özelliğine sahip izolatın F54F kodlu izolat olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bu izolatın en yüksek değerde siderofor üretme potansiyelinin olduğu belirlenmiştir. En düşük oranda engelleme özelliğine sahip izolatların ise %42,5 ile D631, F13, D411 izolatlarının olduğu tespit

edilmiştir. Siderefor ürettiği belirlenen 18 izolattan 16 ‘sı *A.alternata*’ya karşı biyokontrol özelliği göstermiş, 2’si(A211 ve D651) ise göstermemiştir. Bu izolatların biyokontrol özelliği gösterememesinin nedeni olarak siderofor üretme indeksinin düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bunun yanında A411 kodlu izolat ise siderofor üretme özelliğine sahip olmamasına rağmen yüksek derecede biyokontrol özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durumun izolatın biyokontrol etkinliğinde siderofor özellikten farklı özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Biyokontrol özelliğine sahip tüm izolatlar ve aralarındaki istatistiki karşılaştırma ise Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. *Alternaria alternata*’ya karşı biyokontrol özelliği gösteren bakteri izolatları ve % engelleme miktarları

Bakteri İzolatları	<i>Alternaria Alternata</i> Fungus Yarıçapı(cm)	% Engelleme	Bakteri İzolatları	<i>Alternaria Alternata</i> Fungus Yarıçapı(cm)	% Engelleme
D531	2,2±0,08 ^{ghijk}	45	F656	2,2±0 ^{efghijk}	45
D631	2,2±0 ^{efghijk}	45	F22	2,2±0,03 ^{ghijk}	45
D331	2±0,08 ^{efghijk}	50	F24F	2±0,08 ^{efghijk}	50
A41A2	1.1±0,08 ^{ab}	75	F54F	0,8±0 ^a	80
A121	1,6±0,12 ^{cde}	60	F11	1.1±0,05 ^a	77,5
A213	1,8±0,02 ^{defg}	55	F12	1.1±0,11 ^{ab}	75
A422	1,3±0,14 ^{bc}	67,5	F643	2,2±0,05 ^{efghijk}	45
A132	2,1±0,03 ^{efghijk}	47,5	F653	2±0,03 ^{efghijk}	50
A122	1,1±0 ^{ab}	72,5	A211	1,6±0,43 ^{cd}	60
A221	2,2±0,05 ^{efghijk}	45	F633	2±0,05 ^{defghij}	50
A321	1,8±0,38 ^{defgh}	55	D631	2,3±0,06 ^{ab}	42,5
A512	2,2±0,05 ^{efghijk}	45	D42A1	1,1±0,08 ^{ghijk}	72,5
A651	2,2±0,08 ^{ghijk}	45	D642	2,2±0,02 ^{def}	45
A641	2±0,11 ^{defghij}	50	F632	1,7±0,12 ^{efghijk}	57,5
A412	2±0 ^{defghij}	50	F25	2,1±0,05 ^{ijk}	47,5
A411	1.1±0,06 ^{ab}	77,5	D411	2,3±0,17 ^{ab}	42,5
F23	1,8±0,13 ^{defgh}	55	F642	1,1±0,03 ^{ijk}	72,5
F55	1,9±0,03 ^{defghi}	52,5	F13	2,3±0,17 ^{defg}	42,5
F652	1,9±0,17 ^{defghi}	52,5	D332	1,8±0,32 ^{hijk}	55
			Kontrol	4±0,11 ^l	0

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



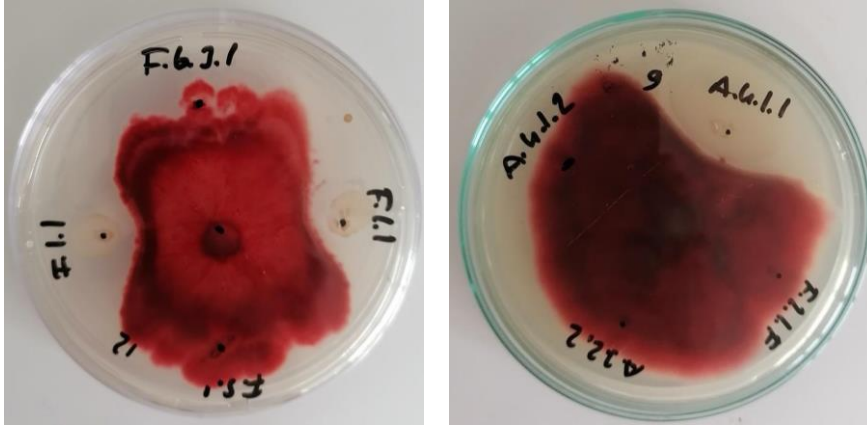
Resim 4.6. *Alternaria alternata*'ya karşı misel engelleme gösteren ve göstermeyen izolatlar

Bakteri izolatlarının başka bir patojen fungus türü olan *F. oxysporum*'a karşı 72 izolattan 8 izolat *Fusarium oxysporum* misel gelişimini %54.54-72.72 arasında engellemiştir (Resim 4.7). *F. oxysporum*'a karşı %72.72 ile en yüksek engelleme oranına sahip ve 3.1 siderefor üretme indeksine sahip olan F11 kodlu izolat iken, en düşük engelleme oranına %54.54 ile A321 kodlu izolat tespit edilmiştir. *F.oxysporum* izolatına karşı biyokontrol özelliği gösteren 8 izolattan 5 tanesi aynı zamanda siderofor özelliği gösterdiği, 3 izolatın (A411, A321 ve D631) ise siderofor özelliği göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Siderofor üreten bakteri izolatlarının iki fungusa karşı etkileri ise Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Fusarium oxysporum*'a karşı biyokontrol özelliği gösteren izolatlar % engelleme oranları

Bakteri İzolatları	<i>Fusarium oxysporum</i> yarıçapı	%Engelleme
A411	1,9±0,11 ^{de}	56,81
A321	2±0,03 ^e	54,54
A211	1,6±0,18 ^{cd}	63,63
F54F	1,3±0,03 ^{ab}	70,45
F11	1,2±0,03 ^a	72,72
F13	1,5±0,03 ^{bc}	65,9
F55	1,6±0,06 ^{cd}	63,63
D651	1,5±0,08 ^{bc}	65,9
Kontrol	4,4±0,1 ^f	0

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



Resim 4.7. *Fusarium oxysporum* 'a karşı misel engelleme gösteren ve göstermeyen izolatlar

Çizelge 4.4. Siderofor özellik gösteren bakteri izolatlarının patojen funguslara karşı biyokontrol etkinlikleri

Bakteri İzolatları	<i>A. alternata</i> 'ya karşı biyokontrol etkisi(%)	<i>F. oxysporum</i> 'ya karşı biyokontrol etkisi(%)
F653	50	-
F633	50	-
F652	52,5	-
F642	72,5	-
F41	60	-
D42A1	72,5	-
A211	60	63.63
A132	47,5	-
D651	57.5	65.9
F643	45	-
F23	55	-
F22	45	-
F24F	50	-
F11	77,5	72,72
F55	52,5	63.63
D42A1	72,5	-
F54F	80	70,45
F13	42,5	65,9

4.6. Bakterilerin MALDI-TOF Analiz Sonuçları

Yapılan bu çalışmada siderofor üretme özelliğine sahip olan ve iki patojen fungus türüne karşı biyokontrol özellik gösteren 6 izolat MALDI-TOF mikrobiyolojik tanılama sisteminde düzeylerinde teşhisleri yapılmıştır. Protein kütle parmak izini kullanan MALDI-TOF bakteri izolatlarının tanılanmasında hızlı ve hassas bir yöntemdir. Tanılama sonuçlarına göre 6 izolat; *Bacillus amyloliquefaciens ssp. plantarum*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter bugandensis*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pseudomonas putida* ve *Bacillus mojavensis* olarak tanılanmıştır (Çizelge 4.6). Analiz sonucunda benzerlik indeksi 2.25-2.22 arası yüksek olası tür teşhisi, 2.19-2.15 arası güvenilir düzeyinde teşhis ve muhtemel tür düzeyinde teşhis, 2.07-2.01 arası muhtemel cins düzeyinde teşhis, 2.01-0.00 arası güvenilirmez tür teşhisi olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.5. Siderofor üretme potansiyeline sahip olan ve her iki fungus türüne karşı biyokontrol özellik gösteren izolatların MALDI-TOF tanı sonuçları

Bakteri Kodu	MALDI-TOF Tanı Sonucu	Benzerlik İndeksi	NCBI No
F54F	<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 49128 THL	2.257	303
F55	<i>Bacillus mojavensis</i> DSM 9205T DSM	2.225	72360
F11	<i>Bacillus subtilis</i> DSM 5552 DSM	2.014	1423
D651	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> LMG 10515 LMG	2.19	471
F13	<i>Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum</i>	2.07	279
	CICC 23985_b CICC		145
A211	<i>Enterobacter bugandensis</i> DSM 101087 DSM	2.153	547

5. TARTIŞMA

Geçmişten günümüze kadar ki yapılan çalışmalar ile *in vitro* ortamda gerçekleştirilen ve sideroforun tespiti, biyokontrol özelliklerin belirlendiği çalışmamızın sonuçları tartışılmış, çalışmalar arasındaki farklılıklar ve benzerliklere yer verilmiştir.

Günümüzde biyoteknoloji, tarım, çevre ve tıpta giderek önemi artan sideroforların ilk keşfi 1950’lilere dayanmaktadır. Neilands ve Leong (1976)’ın *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* türleri üzerinde yaptığı çalışmalar ile mikroorganizmalardaki siderofor üretiminin tespiti konusunda başlangıç yapmışlardır. Siderofor üretiminin tespiti konusundaki çalışmalar günümüzde de halen devam etmektedir (Alsahoo, 2022). Demirin canlı vücudundaki işlevselliği birçok alanı kapsadığı için sideroforların kullanım alanı oldukça geniştir; mikroorganizmaların yaşamlarının devamı için, ekosistemin iyileştirilmesi için, tıp ve bazı klinik uygulamalar için oldukça önemlidir (Körçoban, 2020). Yaptığımız çalışmaya benzer çalışmada bulunan Güney (2014), *Bacillus spp.* türlerinde siderofor üretimini ve spesifik olarak *Bacillus cereus* DSM 4312 ‘nin siderofor üretim optimizasyonunu araştırmışlardır. Körçoban’ın (2020) topraktan izole edilen bakteriler ile yaptığı çalışma sonuçlarında ise en yüksek siderofor üretimin *Bacillus subtilis* DY3 ‘te gözlemlenmiştir.

CAS Agar besiyeri siderofor üreten bakterilerin belirlenmesi için kullanılan seçici bir besiyeridir. Yapılan literatür çalışmasında, birçok çalışmada bu besiyeri siderofor üreten mikroorganizmaların belirlenmesinde kullanılmıştır. Aktan ve Soylu (2020), yaptıkları çalışmalarında Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu çalışmalarında izole ettikleri bakteri izolatlarının siderofor üretme indekslerini belirlemişlerdir ve çalışmamıza benzer şekilde CAS Agar besiyerini kullanmışlardır.

Çalışmamızda siderofor ürettiği ve aynı zamanda patojen funguslara karşı biyokontrol özelliği gösterdiği belirlenen *Pseudomonas putida* ATCC 49128 THL olarak tanımlanan izolat ile ilgili literatürde farklı çalışmalar bulunmaktadır. Güney, Derviş, Özer, Aktaş, Keske (2024), yaptıkları çalışmada EM9 kodlu izolatlarını 16S rRNA geninin sekans analizine göre *Pseudomonas putida* olarak tanımlamışlardır. Yaptığımız çalışmaya benzer şekilde patojen bir fungus türü olan *Fusarium culmorum*’a karşı *in vitro* ortamda %55.59

oranında biyokontrol özelliği gösterdiği ve siderofor üretme potansiyeline sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Kara ve Soylu (2022), çalışmalarında sağlıklı ağaçlardan endofit bakteri izolasyonu gerçekleştirmişlerdir ve bu izolatların antagonistik etkilerinin belirledikleri çalışmalarında MALDI-TOF MS analizi ile *Bacillus mojavensis* BEn3 olarak tanısını yaptıkları izolatın *Fusarium verticillioides*'in misel gelişimini *in vitro* ortamda %50.83 oranında baskıladıklarını tespit etmişlerdir.

Bacillus mojavensis izolatının siderofor ürettiğinin belirlendiği bir farklı bir çalışmada ise Çelikten ve Bozkurt (2018), sağlıklı buğday bitkilerinin köklerinden 120 izolat izole etmişlerdir ve izolatları MALDI-TOF ile *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynebacterium* olarak tanımlarını yapmışlardır. İzolatlar içerisinde siderofor üretiminde en etkili izolatı ise 4.78 siderofor üretme indeksi ile *Bacillus mojavensis* 5DRC4 olarak saptamışlardır. Çalışmamızda ise bu değer 3.5 olarak hesaplanmıştır. Aradaki farkın çevre şartları ve genetiksel farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Koçak ve Salman (2023), çalışmalarında *Bacillus subtilis* DP 143.6'un siderofor üretme indeksini 3.6 olarak belirlemişlerdir. Aynı zamanda bu izolat *in vitro* ortamda patojen bir fungus olan *Macrophomina phaseolina*'a karşı %86 oranında misel gelişimini engellemiştir. Çalışmamızda siderofor indeksi 3.1 ve *Bacillus subtilis* olarak tanımlanan izolatın *Fusarium oxysporum*'a karşı misel gelişimini %72.72 ve *Alternaria alternata*'ya karşı misel gelişimini %77.5 oranında engelleme göstererek çalışma ile uyum içinde olduğu görülmüştür.

B. subtilis CV21 izolatının biyokontrol özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada; Choub ve diğerleri (2024), *B. subtilis* CV21 izolatı *A. alternata* CH3 ve *A. alternata* CH10 suşlarının misel gelişimini sırası ile %29.1 ve %42.5 oranlarında baskıladığını hesaplamışlardır. Çalışmamızda farklı olarak yüksek değerlerde misel gelişiminin baskılanması ise izolatlar arasında direçlilik farkından kaynaklandığı söylenebilir. Çalışmamızda belirlenen diğer bir izolat olan *Acinetobacter calcoaceticus* ile yapılan bir çalışmada Maindad ve diğerleri

(2014), izolatın siderofor üretme özelliğine sahip olduğu ve bu yönü ile farklı türdeki funguslara karşı biyokontrol özelliğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

B. amyloliquefaciens'in biyokontrol özelliğinin araştırıldığı bir çalışmada ise Öztürk ve Endes (2023), *B. amyloliquefaciens* BM23 ve *B. amyloliquefaciens* BM40 izolatları *F. oxysporum f. sp. ciceris*' in misel gelişimini sırası ile %78.57 ve %63.8 oranında baskıladığı belirlemişlerdir, çalışmamızda ise bu oran sırası ile %65.9 ve %42.5 olarak belirlenmiştir. *Bacillus amyloliquefaciens* D5 izolatının siderofor üretme potansiyelinin araştırıldığı çalışmada Kamath, Patel ve Patel (2024), yaptıkları araştırmada izolatın iyi bir siderofor üreticisi olduğunu ve 50 µg/mL siderofor ürettiğini belirtmişlerdir. Bu yönü ile mikroorganizma patojen fungus gelişiminin baskılayabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda da *Bacillus amyloliquefaciens* izolatı 2.8 ile yüksek oranda siderofor ürettiği ve çalışmada kullanılan patojenleri baskıladığı sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışmada önemin giderek artan sideroforun, toprak kaynaklı bakterilerin farklı türlerinden sentezlenebildiği göstermek amaçlanmıştır. Çalışma ile aşağıdaki sonuçlara varılmıştır.

1. Yapılan bu çalışma ile demir ve diğer ağır metalleri şelatlayıp canlı içerisine alınan sideroforun bakteriler tarafından üretilerek elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.
2. Yapılan çalışmada siderofor üreten tüm mikroorganizmaların patojen funguslara karşı biyokontrol etkisi göstermediği belirlenmiştir. Bazı izolatların ise siderofor üretmediği halde biyokontrol özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç biyokontrol özelliğın sadece siderofor ile ilgili olmadığı, mikroorganizmaların farklı etkilerinden kaynaklandığı söylenebilir.
3. İzole edilen 72 izolattan 38 tanesi *A.alternata*'ya karşı biyokontrol özelliği gösterirken, *Fusarium oxysporum*'a karşı bu izolatlardan 8 tanesi biyokontrol özelliği göstermiştir. Burada *F.oxysporum* izolatının *A.alternata* izolatına göre bakteri izolatlarına daha dirençli olduğu sonucuna varılabilir.
4. CAS Agar besiyeri kullanarak en yüksek siderofor üretiminin *Pseudomonas putida* ATCC 49128 THL tarafından gerçekleştirildiği belirlenmiştir.
5. Yapılan çalışma ile toprak bakterilerinin literatürdeki örneklerinden farklı miktarda siderofor ürettiği belirlenmiştir.
6. Üretilen bakteriyel siderofor indekslerinin mikroorganizmalar arasında farklı oranda olduğu tespit edilmiştir.
7. İzole ettiğimiz ve bakteriyel siderofor ürettiği tespit edilen bakteriler kodları ile birlikte F54F *Pseudomonas putida* ATCC 49128 THL, F55 *Bacillus mojavensis* DSM 9205T DSM, F11 *Bacillus subtilis* DSM 5552 DSM, F22 *Acinetobacter calcoaceticus* LMG, 10515 LMG, F23 *Bacillus amyloliquefaciens ssp plantarum* CICC 23985_b CICC, F41 *Enterobacter bugandensis* DSM 101087 DSM olarak tanımlanmıştır.

8. Yapılan çalışmada siderofor üretimi gösteren bakterilerin biyokontrol özellikleri de araştırılmış, *F. oxysporum*'a ve *A. alternata*'ya karşı biyokontrol aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir.
9. Yapılacak olan bir sonraki çalışmalar ile çalışmada kullanılan bakterilerin farklı şartlar altında daha fazla siderofor üretebileceği ve siderofor üretimi gerçekleştiren bakterilerin bitki koruma ürünlerinde, demir üzerindeki organik bir şekilde pas gideriminde kullanılabilirliği konusunda geliştireceği düşünülmektedir. Ayrıca tıpta truva atı stratejisinde ve tarımsal alanlardaki birçok biyoteknolojik gelişmelerde kullanılabilirliği, funguslar üzerinde gösterdiği inhibisyon aktivitesinin ise farklı alanlarda kullanılmak üzere geliştirilmesi üzerine araştırmalar yapılabilirliği öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alsahoo R. A. A., (2022). Iraklı hastalarda üropatojenik *Escherichia coli*'de sideroforları kodlayan genlerin araştırılması, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ahmad F., Babalola O. and Tak H. I. (2012). Potential of MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid detection technique in plant pathology: identification of plant-associated microorganisms, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(4),1247- 1255.
- Aktan Z. C. ve Soylu S, (2020). Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu.
- Atbaş Ş., (2022). Çeşitli tek yıllık bitkilerden izole edilmiş olan endofit bakterilerde siderofor üretim potansiyelleri, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Avşar H., (2017). Yabani baklagil bitkilerinden izole edilen *Rhizobium* spp. türlerinin siderofor üretme ve melas besi ortamında poly- β - hidroksibütirat (PHB) üretim veriminin araştırılması, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Aydın B., (2014). *Brevibacillus Laterosporus* türündeki siderofor üretiminin belirlenmesi ve civa, nikel, kobalt, demir ağır metalleri varlığındaki değişimi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik Ve Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Balagurunathan R., Radhakrishnan M., (2007). Microbial siderophores-gateway for iron removal, *Envis Centre Newsletter*, 5, 7-9.
- Barker A. V., Pilbeam, D. J., (2015). Handbook of plant nutrition, CRC press, p.
- Baysse C., De Vos D., Naudet Y., Vandermonde A., Ochsner U., Meyer J.-M., Budzikiewicz H., Schäfer M., Fuchs R., Cornelis P., et all., (2000). Vanadium interferes with siderophore-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiology*, 146 (10), 2425-2434.
- Bektaş İ., (2017). Amasya ilinde yetiştirilen soğanlarda görülen dip çürüklüğü etmeni *fusarium oxysporum F. sp. cepae*'nin karakterizasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri ile biyolojik mücadelesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Boukhalfa H., Crumbliss A. L, (2002). Chemical aspects of siderophore mediated iron transport, *Biometals*, 15, 325-339.
- Budzikiewicz H., (2010). Siderophores from bacteria and from fungi, Iron uptake and homeostasis in microorganisms. Caister Academic, Norfolk, 1-16.
- Budzikiewicz H., Schäfer M., Fuchs R., Cornelis P., (2000). Vanadium interferes with siderophore-mediated iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*, *Microbiology*, 146 (10), 2425-2434.

- Braud A., Jézéquel K., Bazot S., Lebeau T., (2009). Enhanced phytoextraction of an agricultural Cr-and Pb-contaminated soil by bioaugmentation with siderophore-producing bacteria, *Chemosphere*, 74 (2), 280-286.
- Carrim A. J. I., Barbosa E. C., Vieira J. D. G., (2006). Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of jacaranda decurrens cham (Carobinha-Do-Campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 49(3): 353-359.
- Carrillo-Castaneda G., Munoz J. J., Peralta-Valderrama J. R., (2005). A spectrophotometric method to determine the siderophore production by strains of fluorescent *Pseudomonas* in the presence of copper and iron, *Microchemical Journal*, 81, 35- 40.
- Charlang G., Ng, B., Horowitz NH., Horowitz RM., (1981). Cellular and extracellular siderophores of *Aspergillus nidulans* and *Penicillium chrysogenum*, *Molecular Cell Biology*. 1(2):94-100.
- Choub V., Yim E. Y., Choi S. I., Won S. J., Moon J. H., Yun J. Y., ... and Ahn, Y. S., (2024). Effective biocontrol efficacy of *Bacillus subtilis* CV21 against cherry leaf spot disease caused by *Alternaria* phytopathogens and growth promotion of flowering cherry (*Prunus sargentii* Rehder) seedlings. *Biological Control*, 197, 105603.
- Cornelis P., Matthijs S., (2007). *Pseudomonas* siderophores ve their biological significance, *Soil Biology & Biochemistry*, 12, 193-203.
- Couillerot O., Prigent-Combaret C., Caballero-Mellado J., Moënne-Loccoz Y., (2009). *Pseudomonas fluorescens* and closely-related fluorescent *Pseudomonads* as biocontrol agents of soil-borne phytopathogens, *Letters in Applied Microbiology*, 48, 505-512.
- Crowley D., (2000). Function of siderophores in the plant rhizosphere, *The Rhizosphere* 1st Edition 2000 CRC Press 40 ISBN9780429116698.
- Çelikten M., Bozkurt İ. A., (2018). Buğday kök bölgesinden izole edilen bakterilerin buğday gelişimine olan etkilerinin belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1), 33-48.
- Çobanoğlu H. B. İ., (2023). Toprak ve gıda kaynaklı örneklerden *Bacillus* türlerinin izole edilip Maldı-ToF MS cihazı ile tanımlanması, siderofor etkinliklerinin belirlenmesi ve optimizasyonu, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Dave B., Dube H., (2000). Chemical characterization of fungal siderophores, *Indian Journal of Experimental Biology*, 38 (1), 56-62.
- Dogan G., Taskin B., (2021). Hydrolytic enzymes producing bacterial endophytes of some poaceae plants. *Polish journal of microbiology*, 70(3): 297.

- Eisendle M., Schrettl M., Kragl C., Muller D., Illmer P. and Haas H., (2006). The intracellular siderophore ferricrocin is involved in iron storage, oxidative-stress resistance, germination ve sexual development in *Aspergillus nidulans*”, Eukaryot Cell. 5, 1596-1603.
- Ferguson A. D., Deisenhofer J., (2002). TonB-dependent receptors-structural perspectives, Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1565 (2), 318-332.
- Ghosh S. K., Bera T., Chakrabarty A. M., (2020). Microbial siderophore–a boon to agricultural sciences. Biological Control, 144:104214.
- Glic B. R., Patten C. L., Holguin G., Penrose D. M., (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria, World Scientific, p.
- Goswami D., Thakker J. N., Dhandhukia P. C., (2016). Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review, Cogent Food & Agriculture, 2 (1), 1127500.
- Güney E., (2014). *Bacillus Sp.* türlerinde siderofor üretimi ve bacillus cereus dsm 4312’de siderofor üretiminin optimizasyonu, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Güney İ. G., Derviş S., Özer G., Aktaş H., Keske M. A., (2024). Determination of Antagonistic Activities of Endophytic Bacteria Isolated from Different Wheat Genotypes Against *Fusarium culmorum*. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 10(1), 96-116.
- Haşii B., Mahmudi P., Muhammedzadeh A., (2021). Siderophores: Importance in bacterial pathogenesis and applications in medicine and industry, Microbiological Research Volume 250, September 2021, 126790.
- Hider R. C., Kong X., (2010). Chemistry and biology of siderophores, Natural Product Reports, 27 (5), 637-657.
- Hoffmann T., Schütz A., Brosius M., Völker A., Völker U., Bremer E. et all., (2002). High-salinity-induced iron limitation in *Bacillus subtilis*, Journal of Bacteriology, 184 (3), 718-727.
- Holinsworth B., Martin, J., (2009). Siderophore production by marine-derived fungi, BioMetals, 22(12), 625-632.
- Jena S., K., Rath C. C., (2013). Optimization of culture conditions of phosphate solubilizing activity of bacterial sp. isolated from Similipal biosphere reserve in solid-state cultivation by response surface methodology. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2(5): 47-59.
- Kamath A., Patel D., Patel S., (2024). Microbial allies: purified siderophore from *Bacillus amyloliquefaciens* D5 enhances *Vigna radiata* L. growth. *Indian Phytopathology*, 1-12.

- Kara M., Soylu S., (2022). Isolation of endophytic bacterial isolates from healthy banana trees and determination of their in vitro antagonistic activities against crown rot disease agent *Fusarium verticillioides*. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(1), 36-46.
- Karakaş İ., Ay M., Öztürk F., Kaya S., Hacıoğlu N., (2022). Nikelce Zengin Topraklardan (Çanakkale) İzole Edilen Bakterilerin Bitki Büyüme Teşvik Edici Potansiyellerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 424-431.
- Koçak R., Salman Ö., (2023). Bazı endofitik ve rizosferik bakterilerin fasulyede *Macrophomina Phaseolina*'ya karşı etkinliklerinin in vitro koşullarda belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 27(1), 42-51.
- Körçoban S., (2020). Toprak izolatu *Bacillus sp.* türlerinde siderofor optimizasyonu Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kraemer S. M., (2004). Iron oxide dissolution and solubility in the presence of siderophores, *Aquatic Sciences*, 66, 3-18.
- Lamb A. L., (2015). Breaking a pathogen's iron will: Inhibiting siderophore production as an antimicrobial strategy, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1854 (8), 1054-1070.
- Li H.B., Singh R. K., Singh P., Song Q., Xing Y., Yang L., Li Y. Et all., (2017). Genetic diversity of nitrogen-fixing and plant growth promoting *Pseudomonas species* isolated from sugarcane rhizosphere. *Front. Microbiol.*, 8: 1268.
- Ma J. F., (2005). Plant root responses to three abundant soil minerals: silicon, aluminum and iron, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24 (4), 267-281.
- Maindad D. V., Kasture V. M., Chaudhari H., Dhavale D. D., Chopade B. A., Sachdev D. P., (2014). Characterization and fungal inhibition activity of siderophore from wheat rhizosphere associated *Acinetobacter calcoaceticus* strain HIRFA32. *Indian journal of microbiology*, 54, 315-322.
- Miethke M., Marahiel M. A., (2007). Siderophore-Based Iron Acquisition and Pathogen Control *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 71(55), 413-451.
- Leong J., Neilands J. B., (1976). Enterik bakterilerde siderofor demir taşınmasının mekanizmaları, *Bakteriyoloji Dergisi*. 1976 Mayıs;126(2):823-830.
- Neilands J. B., (1981). Microbial iron compounds. *Annual review of biochemistry*, 50(1): 715-731.
- Neilands J. B., (1993). Siderophores. *Archives of biochemistry and biophysics*, 302(1):1-3.
- Neilands J. B., (1995). Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds, *Journal of Biological Chemistry*, 270 (45), 26723-26726.

- Özcan S., (2014). Tuzak böcek yöntemi ile entomopatojen fungus izolasyonunun bazı yönleri ile incelenmesi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ozturk M., Endes A., (2023). Isolation of bacterial isolates from soil samples and determination of their in vitro antagonistic potential against chickpea wilt disease agent *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 27(1), 64-72.
- Pahari A., Pradhan A., Nayak S., Mishra B. B., (2017). Bacterial siderophore as a plant growth promoter, *Microbial Biotechnology: Volume 1. Applications in Agriculture and Environment*, 163-180.
- Pavlovic M., Konrad R., Iwobi A. N., Sing A., Busch U., Huber I. et al., (2012). A dual approach employing MALDI-TOF MS and real-time PCR for fast species identification within the *Enterobacter cloacae* complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328(1), 46-53.
- Payne S. M., (1994). (25) Detection, Isolation, and characterization of siderophores. *Methods in enzymology*, 235: 329-344.
- Raines D. J., Sanderson T.J., Wilde E., Duhme-Klair A. K., (2015). Siderophores. In *elsevier reference module in chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, 1-32.
- Ratledge C., Dover L. G., (2000). Iron metabolism in pathogenic bacteria, *The Annual Review of Microbiology*, 54(3), 881-941.
- Rayner B., Verderosa AD., Ferro V., Blaskovich M. AT., (2023). Siderophore conjugate to combat antibiotic-resistant bacteria. Centre for Superbug Solutions. Institute for Molecular Bioscience University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia.
- Renshaw Jc., Robson Gd., Trıncı Apj., Wiebe M. G., Yaşayanlar F. R., Çarpışma D., Taylor R J. et al., (2002). Mantar sideroforları, yapıları, işlevleri ve uygulamaları, *Mikolojik Araştırma*; 106(10):1123-1142.
- Sandy M., Butler A., (2009). Microbial iron acquisition: marine and terrestrial siderophores, *Chemical Reviews*, 109 (10), 4580-4595.
- Schalk I. J., Hannauer M., Braud A., (2011). New roles for bacterial siderophores in metal transport and tolerance, *Environmental Microbiology*, 13 (11), 2844-2854.
- Skaar E. P., (2010). The battle for iron between bacterial pathogens and their vertebrate hosts *PLOS Pathogens*, 6, 12-15.
- Timofeeva A. M., Galyamova M. R., Sedykh S. E., (2022). Bacterial siderophores: Classification, biosynthesis, perspectives of use in agriculture, *Plants*, 11 (22), 3065.

Uysal A., Kurt Ş., Soylu E., Kara M., Soylu S., (2018), Evaluation of the MALDI-TOF mass spectrometry for identification of some plant fungal pathogenic species. International Agricultural Science Congress. Van.

Vessey J. K., (2003), Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers, Plant and Soil, 255, 571-586.

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Emine DURMAZ

Eğitim Derecesi	Okul-Program	Mezuniyet yılı
Lisans	Marmara Üniversitesi-Biyoloji	2019

Bilimsel Çalışmalar

Durmaz, E. ve Bektas, İ. (2024, 1-3 September). *Siderofor üreten bazı toprak bakterilerinin biyokontrol özelliklerinin incelenmesi*, Cukurova 13th International Scientific Researches Conference. Adana, Turkey. (Sözlü Sunum).