



**SİO₂ NANOPARTİKÜLLERİ VE ENDOFİTİK BAKTERİ
UYGULAMALARININ
YONCADA (*Medicago sativa* L.) KURAKLIK STRESİ
TOLERANSI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN İN
VİTRO KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Merve ŞİMŞEK GEYİK

Doktora Tezi
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Danışman: Doç. Dr. İsmail BEZİRGİNOĞLU

2025
Her hakkı saklıdır.



FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

SiO₂ NANOPARTİKÜLLERİ VE ENDOFİTİK BAKTERİ
UYGULAMALARININ YONCADA (*Medicago sativa* L.) KURAKLIK STRESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

Merve ŞİMŞEK GEYİK

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU

Anabilim Dalı: Moleküler Biyoloji ve Genetik

Erzurum

2025

Her hakkı saklıdır

T.C.
ERZURUM TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ ONAY FORMU

**SiO₂ NANOPARTİKÜLLERİ ve ENDOFİTİK BAKTERİ
UYGULAMALARININ YONCADA (*Medicago sativa* L.) KURAKLIK STRESİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI**

Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU danışmanlığında, Merve ŞİMŞEK GEYİK tarafından hazırlanan bu çalışma 15 / 08 / 2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **Oy birliği ile (5/5)** kabul edilmiştir.

Başkan	: Prof. Dr. Ökkeş ATICI	İmza	:
Üye	: Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Murat TURAN	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Mustafa AKÇAY	İmza	:
Üye	: Dr. Öğr. Üyesi Büşra ALBAYRAK TURGUT	İmza	:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum

Doç. Dr. Bünyamin ÖZGERİŞ
Enstitü Müdürü

*Bu tez çalışması TÜBİTAK tarafından 122Z810 ve 124Z578 nolu projeler ile desteklenmiştir.

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Erzurum Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki tüm bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

15 / 08 / 2025

İmzası

Merve ŞİMŞEK GEYİK

ÖZET

DOKTORA TEZİ

SiO₂ NANOPARTİKÜLLERİ VE ENDOFİTİK BAKTERİ UYGULAMALARININ YONCADA (*Medicago sativa* L.) KURAKLIK STRESİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA ARAŞTIRILMASI

MERVE ŞİMŞEK GEYİK

Erzurum Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU

Kuraklık, dünya genelinde tarımsal üretkenliği kısıtlayan başlıca abiyotik stres faktörlerinden biri olup, küresel gıda güvenliği açısından ciddi bir tehdittir. Nanoteknoloji, malzemelerin atom ve molekül düzeyinde kontrol edilmesini sağlayarak sağlık, enerji, çevre ve tarım gibi birçok alanda yenilikler sunmaktadır. Endofitik bakteriler ise bitki büyümesini destekleyen ve çevresel streslere karşı dayanıklılığı artıran yararlı mikroorganizmalardır. Bu çalışmada, kuraklık toleransı yüksek olan Türkiye’de yetişen *Opuntia ficus-indica*, *Agave americana* kaktüs ve sukulentlerden 40 endofitik bakteri izole edilmiştir. Bu bakteriler arasından patojenite ve PGPB özellikleri dikkate alınarak seçilen 4 izolat ile uygulamalar yapılmıştır. Ayrıca bakteriler, uygulanacak dozdan daha yüksek dozdaki SiO₂ nanopartikülleri ile muamele edilip, MTT testi sonucunda canlılığını sürdürenler seçilmiştir. Tür teşhisleri 16S rRNA dizi analiziyle yapılarak NCBI GenBank’a kaydedilmiştir (A2: *Bacillus wiedmannii* PP473246, AT3: *Bacillus proteolyticus* PP473247, HT1: *Lysinibacillus macroides* PP473248, H17: *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* PP473250). Endofitik bakteri ve SiO₂ nanopartiküllerinin *Medicago sativa* (yonca)’da PEG-6000 ile oluşturulan kuraklık stresi altında fizyolojik ve biyokimyasal tepkiler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Stres altındaki bitkilerde total protein, kök-gövde uzunluğu, antioksidan enzim aktiviteleri, reaktif oksijen türleri ve lipid peroksidasyon seviyeleri belirlenmiştir. Uygulanan izolatlar kök-gövde kuru ağırlığını ve klorofil miktarını artırmış; H₂O₂, süperoksit anyonu ve MDA seviyelerini düşürmüştür. Ayrıca CAT, APX, GR, POX ve SOD aktivitelerini artırmışlardır. Bakterilerin bitki hücrelerindeki lokalizasyonu için SEM analizi yapılmıştır. Ayrıca öne çıkan AT3 ve H17 izolatlarının uygulandığı yoncada SiO₂ nanopartiküllerinin hücredeki varlığı CLSM ile gösterilmiştir. İnoküle edilen bitkilerden tekrar izolasyon yapılarak ve 16S rRNA analizi ile bakterilerin varlığı doğrulanmıştır. Sonuçlar, izole edilen endofitik bakteriler ile SiO₂ nanopartiküllerinin kombine uygulamalarının, yonca bitkisinde kuraklık stresine karşı uyum yanıtlarını güçlendiren ve stresin olumsuz etkilerini hafifleten etkili bir strateji olduğunu göstermiştir.

2025, 128 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kuraklık stresi, endofitik bakteriler, SiO₂ NP, kaktüs, sukulent, antioksidan sistem.

ABSTRACT

Ph.D

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF SiO₂ NANOPARTICLES AND ENDOPHYTIC BACTERIA APPLICATIONS ON DROUGHT STRESS TOLERANCE IN ALFALFA (*Medicago sativa* L.) UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

Merve ŞİMŞEK GEYİK

Erzurum Technical University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Molecular Biology and Genetics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU

Drought is one of the main abiotic stress factors limiting agricultural productivity worldwide and poses a serious threat to global food security. Nanotechnology offers innovations in many fields such as health, energy, environment, and agriculture by enabling the control of materials at the atomic and molecular level. Endophytic bacteria are beneficial microorganisms that support plant growth and increase resistance to environmental stresses. In this study, 40 endophytic bacteria were isolated from *Opuntia ficus-indica*, *Agave americana* cacti, and succulents grown in Turkey, which have high drought tolerance. Four isolates were selected from among these bacteria based on their pathogenicity and PGPB properties, and applications were conducted. Additionally, the bacteria were treated with SiO₂ nanoparticles at a higher dose than the application dose, and those that maintained their viability were selected based on the MTT test results. Species identification was performed using 16S rRNA sequence analysis and the results were recorded in the NCBI GenBank (A2: *Bacillus wiedmannii* PP473246, AT3: *Bacillus proteolyticus* PP473247, HT1: *Lysinibacillus macroides* PP473248, H17: *Enterobacter hormaechei* subsp. *xiangfangensis* PP473250). The effects of endophytic bacteria and SiO₂ nanoparticles on the physiological and biochemical responses of *Medicago sativa* (alfalfa) under drought stress induced by PEG-6000 were investigated. Total protein, root-stem length, antioxidant enzyme activities, reactive oxygen species, and lipid peroxidation levels were determined in stressed plants. The applied isolates increased root-stem dry weight and chlorophyll content; they decreased H₂O₂, superoxide anion, and MDA levels. Additionally, they increased CAT, APX, GR, POX, and SOD activities. SEM analysis was performed to determine the localization of bacteria in plant cells. Furthermore, the presence of SiO₂ nanoparticles in the cells of alfalfa treated with the prominent AT3 and H17 isolates was demonstrated using CLSM. The presence of bacteria was confirmed by re-isolation from inoculated plants and 16S rRNA analysis. The results indicate that the combined application of isolated endophytic bacteria and SiO₂ nanoparticles is an effective strategy for enhancing adaptation responses to drought stress and mitigating its adverse effects in alfalfa plants.

2025, 128 pages

Keywords: Drought stress, endophytic bacteria, SiO₂ NP, cactus, succulent, antioxidant system.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca bilgi birikimlerinden faydalandığım, yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU'na,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesi sürecine önerileri ile bana yol gösteren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya, Doç. Dr. Semin GEDİKLİ'ye, Dr. Öğr. Üyesi Murat TURAN'a,

Araştırma sürecinde manevi desteklerini her zaman hissettiğim Dr. Büşra YAZICILAR'a ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında, her zorlukta yanımda olan, desteğiyle bana güç veren sevgili eşim Selim GEYİK'e,

Beni büyük fedakarlıklar ile bugüne getiren, maddi manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen başta biricik annem, canım babam, varlıklarını her zaman hissettiğim canım ablalarım ve canım abime,

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesine maddi destek sağlayan TÜBİTAK'a, YÖK 100/2000 burs programına ve TÜBİTAK-BİDEB 2211/A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı'na,

Son olarak da beni yetiştiren Fen Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü hocalarıma, çalışmamı gerçekleştirdiğim Erzurum Teknik Üniversitesi Yüksek Teknoloji ve Araştırma Merkezi'ne (ETÜ-YÜTAM) teşekkür ederim.

Merve ŞİMŞEK GEYİK

Ağustos 2025

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1.Yonca (<i>Medicago sativa</i> L.) Bitkisine Genel Bakış.....	1
1.2.Bitkilerde Stres Çeşitleri	3
1.2.1. Kuraklık stresi	5
1.3. Nanoteknolojinin Tarımda Kullanımı	18
1.3.1.Nano Gübreler.....	19
1.3.2.Nanopestisitler.....	20
1.3.3.Nanobiyosensörler.....	21
1.3.4.Nanomalzemelerin Toptaktaki Yolculuğu	21
1.3.5.Nanomalzemelerin Toprak ve Bitki Üzerindeki Etkisi.....	22
1.4.Kaktüs, Sukulent Türlerinde Endofitik Bakteriler ve Tarımda Kullanımı.....	25
1.5.Endofitik Bakteriler ve Tarımda Kullanımları	26
1.5.1.Endofitik Bakterilerin Bitki Dokusuna Girişi ve İletimi.....	27
1.5.2.Bitki Endofitik Bakteri Etkileşimleri	29
1.5.3.Bitkide Endofitik Bakteriyel Aracılı Kuraklık Toleransı.....	30
2. KAYNAK ÖZETLERİ	36
3. MATERYAL ve YÖNTEM	46
3.1.Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	46
3.2.Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler.....	47
3.3.Bitki Materyalleri	49
3.4.Endofitik Bakterilerin İzolasyonu	50
3.5.Kuraklığa Toleranslı Olan Bakterilerin Seçilmesi	50
3.6.Bakterilerin SiO ₂ NP'lerden Etkilenme Durumlarının Belirlenmesi	50
3.7.Bakterilerin Yoncada Patojenite Durumlarının Belirlenmesi	51
3.8.Bakterilerin PGPB Özellikleri Açısından Değerlendirilmesi	51

3.8.1.Gram Reaksiyon Testi.....	52
3.8.2.Bakterilerin Siderofor Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi	52
3.8.3.Bakterilerin Azot Fiksasyonu Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	52
3.8.4.Bakterilerin ACC Deaminaz Aktivite Testi	53
3.8.5.Bakterilerin IAA Hormonu Üretme Potansiyeli	53
3.8.6.Bakteri İzolatlarının Katalaz ve Oksidaz Aktivitesi Testleri	54
3.9.Bakteri İzolatlarının Moleküler Tanılanması	54
3.10.Yoncada Kuraklık Sağlayacak PEG-6000 Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	55
3.11.Yoncada SiO ₂ NP'lerinin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	55
3.12.Yoncada SiO ₂ NP'leri ve Bakterilerin Birlikte Uygulanması.....	55
3.13.Uygulamaların Yoncada Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri.....	56
3.13.1.Kök-Gövde Uzunluğunun Belirlenmesi.....	56
3.13.2.Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi	57
3.13.3.Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi.....	57
3.13.4.Yapraklardaki Canlılık Testi	58
3.13.5.Prolin İçeriğinin Belirlenmesi	58
3.13.6.Total Şeker Miktarının Belirlenmesi.....	59
3.13.7.Dokularda Lipid Peroksidasyonu (MDA) Seviyesinin Belirlenmesi.....	60
3.13.8.Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarının Belirlenmesi.....	60
3.13.9.Süperoksit Anyonu (O ₂ ⁻) Miktarının Belirlenmesi	61
3.13.10.Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	62
3.13.11.Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi	62
3.13.12.Peroksidaz (POX) Aktivitesinin Belirlenmesi	63
3.13.13.Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi	63
3.13.14.Glutatyon Redüktaz (GR) aktivitesi Belirlenmesi	63
3.14.SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)	63
3.15.Bakteri Uygulanan Bitkilerden Endofitik Kolonizasyon Doğrulanması	64
3.16.Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (CLSM)	64
3.17.İstatistik Analiz	65
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	66
4.1.Bitki Materyallerinin Değerlendirilmesi	66
4.2.Bitkilerden Endofitik Bakteri İzolasyonun Değerlendirilmesi	66
4.3.Kuraklığa Toleranslı Olan Bakterilerin Seçiliminin Değerlendirilmesi	67
4.4.Bakterilerin SiO ₂ NP'lerden Etkilenme Durumlarının Değerlendirilmesi.....	68
4.5.Bakterilerin Yoncada Patojenite Durumlarının Değerlendirilmesi.....	69

4.6.Bakterilerin Fizyolojik, Biyokimyasal, Moleküler ve PGP Özellikleri Açısından Değerlendirilmesi.....	72
4.7.Yoncada Kuraklık Sağlayacak PEG-6000 Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi.....	79
4.8.Yoncada SiO ₂ NP Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi.....	80
4.9.Yoncada SiO ₂ NP'leri ve Bakterilerin Birlikte Uygulamasının Değerlendirilmesi..	81
4.10.Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi.....	83
4.11.SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu) Analizi Değerlendirmesi.....	99
4.12.Bakteri Uygulanan Bitkilerden Endofitik Kolonizasyon Doğrulanması	100
4.13.CLSM (Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop) Analizi Değerlendirmesi.....	101
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	104
KAYNAKLAR	106



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Açıklama

dk	Dakika
gr	Gram
kDa	Kilo Dalton
µL	Mikrolitre
µM	Mikro Molar
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Mili Molar
mg	Miligram
N	Normalite
Sn	Saniye
°C	Santigart Derece
cm	Santimetre
%	Yüzde

Kısaltmalar

ABA	Abskiskik Asit
ABSA	Amonyum Benzono Sülfonik Asit
ACC	1-aminosiklopropan-1-karboksilat
APX	Askorbat Peroksidaz
AQP	Akuaporinler
AsA	Askorbik asit
AsA-GSH	Askorbik asit-Glutatyon
BCA	Bişiklinik Asit
BSA	Bovine Serum Albumin
CAM	Crassulacean Asit Metabolizması
CAS	Chrome Azurol S
CAT	Katalaz

CFU	Koloni Oluşturan Birim
CLSM	Konfokal Lazer Taramalı Elektron Mikroskop
DF	Dworkin & Foster Tuz Ortamı
dH ₂ O	Distile Su
DHAR	Dehidroaskorbat Redüktaz
EC	Elektrik İletkenliği
EPS	Ekzopolisakkarit
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
Fe	Demir
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GSH	İndirgenmiş Glutasyon
GSSG	Oksitlenmiş Glutasyon
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H ₂ PO ₄ ⁻	Monobazik Fosfat
HDTMA	Heksa Desil Trimetil Amonyum Bromür
HPO ₄ ²⁻	Dibazik fosfat
IAA	İndol-3-Asetik Asit
KA	Kuru Ağırlık
LB	Luria Bertani Broth
LEA	Geç Embriyogenez Proteinleri
LPO	Lipid Peroksidasyonu
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehid
MDHA	Monodehidroaskorbat
MDHAR	Monodehidroaskorbat Redüktaz
MIP	Major Intrinsic Protein
MS	Murashige ve Skoog Besiyeri
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NaCl	Sodyum Klorür
NaOCl	Sodyum Hipoklorid
NA	Nutrient Agar
NB	Nutrient Broth
NBT	Nitroblue Tetrazolium Klorür
NIP	Nodulin 26 Benzeri Proteinler

NK	Negatif Kontrol
NO	Nitrik Oksit
NP	Nanopartikül
$^1\text{O}_2$	Singlet Oksijen
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Süperoksit Radikali
$\cdot\text{OH}$	Hidroksil Radikali
P	Fosfor
PBS	Fosfat Tamponu
PEG	Polietilen glikol
PGPR	Bitki Büyümesini Uyarıcı Rizobakteriler
PGPB	Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler
PIP	Plazma Membran İçsel Proteinleri
PIPES	Piperazin-N, N'-bis 2-etansülfonik asit
PK	Pozitif Kontrol
POX	Peroksidaz
PPO	Polifenol Oksidaz
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
QTL	Kantitatif Özellik Lokusu
RhodamineB	N-[9-2-karboksifenil-6-(dietilamino)-3H-ksanten-3-iliden]-N-etiletanaminyum klorür
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RWC	Bağıl Su İçeriği
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopu
SIP	Küçük ve Bazı İçsel Proteinler
SOD	Süperoksit Dismutaz
TAE tamponu	Tris-Asetat tamponu
TBA	Tiyobarbitürik Asit
TCA	Trikloroasetik Asit
TIP	Tonoplast İçsel Proteinleri
$\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$	Titanyum Disülfat
TOM	Toprak Organik Maddesi
YA	Yaş Ağırlık
Zn	Çinko

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stresler.....	4
Şekil 1.2. Bitkinin kuraklık toleransı süreci	11
Şekil 1.3. Kuraklık stresinin bitkide etkileri ve yanıtları	14
Şekil 1.4. Tarımda önemli teknolojilerin tarihleri	18
Şekil 1.5. Bitkiye NP uygulama şekilleri.....	19
Şekil 1.6. Uygulanan NP'lerin topraktaki kaderi.....	22
Şekil 1.7. NP'lerin bitki hücresindeki yolculuğu.....	24
Şekil 1.8. Endofitik bakterilerin bitkide yolculuğu.....	29
Şekil 1.9. Endofitik bakterilerin salgıladığı maddeler	33
Şekil 1.10. Kuraklık stresine karşı endotifik bakterilerin bitkisel yanıtları	35
Şekil 3.1. IAA standart grafiği.....	54
Şekil 3.2. Protein standart grafiği	57
Şekil 3.3. Prolin standart grafiği	59
Şekil 3.4. Total şeker standart grafiği	59
Şekil 3.5. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik ..	61
Şekil 3.6. Süperoksit anyonu miktarı belirlemede kullanılan standart grafik.....	61
Şekil 3.7. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik	62
Şekil 4.1. Çalışılan bitki örneklerine ait görseller.....	66
Şekil 4.2. İzole edilen endofitik bakteriler.....	67
Şekil 4.3. Bakteri izolatları SiO ₂ muamelesi MTT sonuçları	69
Şekil 4.4. Yonca bitkisine bakteri izolatlarının uygulamasının sonuçları	70
Şekil 4.5. Bakteri uygulamalarının yoncada patojenite sonuçları	71
Şekil 4.6. Bakteri izolatlarının siderofor üretim potansiyelleri.....	73
Şekil 4.7. Bakteri izolatlarının azot fiksasyonu potansiyelleri	74
Şekil 4.8. Bakteri izolatlarının ACC Deaminaz aktiviteleri	75
Şekil 4.9. Bakteri izolatlarının IAA üretim potansiyelleri.....	76
Şekil 4.10. Bakteri İzolatları filogenetik ağacı	79
Şekil 4.11. Yonca bitkisini %50, % 75 oranında inhibe eden PEG kontrasyonunun belirlenmesi	80
Şekil 4.12. İn vitro PEG ve SiO ₂ doz belirlenmesi	81
Şekil 4.13. Bakteri ve SiO ₂ yonca uygulamaları.....	83

Şekil 4.14. Bakteri ve SiO ₂ uygulamalarının kök gövde uzunluğu üzerine etkileri	84
Şekil 4.15. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları total protein üzerine etkileri.....	85
Şekil 4.16. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları total klorofil miktarı üzerine etkileri.....	86
Şekil 4.17. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları yaprak canlılığı üzerine etkileri	87
Şekil 4.18. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları prolin miktarı üzerine etkileri.....	89
Şekil 4.19. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları total şeker miktarı üzerine etkileri	90
Şekil 4.20. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları MDA seviyesi üzerine etkileri.....	91
Şekil 4.21. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları H ₂ O ₂ seviyesi üzerine etkileri.....	92
Şekil 4.22. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları O ₂ ⁻ seviyesi üzerine etkileri.....	93
Şekil 4.23. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları CAT aktivitesi bulguları.....	95
Şekil 4.24. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları SOD aktivitesi bulguları.....	96
Şekil 4.25. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları POX aktivitesi bulguları.....	97
Şekil 4.26. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları APX aktivitesi bulguları.....	98
Şekil 4.27. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları GR aktivitesi bulguları	99
Şekil 4.28. Bakteri ve SiO ₂ uygulamaları sonucu SEM görüntüleri.....	100
Şekil 4.29. CLSM analizi bulguları	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan Cihazlar	46
Çizelge 4.1. Bakteri izolatlarının patojenite ve PGBP özellikleri açısından değerlendirilmesi	79
Çizelge 4.2. Bakteri İzolatlarının moleküler tanılanması.....	79



1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artmasıyla arazi kullanımının değişmesi, küresel gıda talebini de yükseltmiştir (Jaron and Galal 2009; Zhao et al. 2024). Tarımsal üretimi kısıtlayan başlıca çevresel stres faktörlerinden biri olan kuraklık, fotosentez azalması, büyüme yavaşlaması, verim ve kalite düşüşü gibi olumsuz etkilere yol açmıştır (Kadam et al. 2014; Khan et al. 2021; Seleiman et al. 2021). Bitkiler de bu koşullara karşı morfolojik ve biyokimyasal tepkiler geliştirmiştir.

Baklagil yem bitkilerinden olan *Medicago sativa* (yonca) yüksek besin değeri ve toprak iyileştirme özellikleri nedeniyle yaygın olarak yetiştirilirken kuraklık stresine özellikle çimlenme ve fide dönemlerinde hassasiyet göstermiştir (Wu et al. 2004; Özkurt vd. 2019).

Endofitik bakteriler, bitki dokularında kolonize olabilen ve büyüme ile stres toleransını artıran mikroorganizmalardır. Bu bakteriler; su alımını artırma, kök gelişimini destekleme, ozmoprotektan üretimi, besin alımını iyileştirme ve bitki hormonları sentezleme gibi mekanizmalarla kuraklık stresine karşı direnç sağlamaktadır. Ayrıca sekonder metabolit üretimini teşvik ederek bitkinin biyotik ve abiyotik strese karşı dayanıklılığını artırmaktadır. Endofitlerin bu işlevleri, kurak koşullarda sürdürülebilir tarımı destekleyen umut verici bir strateji olarak öne çıkmıştır (Mattoo and Nonzom 2021; Kelbessa et al. 2023; Bharadwaj et al. 2024).

1.1.Yonca (*Medicago sativa* L.) Bitkisine Genel Bakış

Yonca taksonomik sınıflandırmada Plantae alemi, Tracheophyta şubesi, Magnoliopsida sınıfı, Fabales takımı, Fabaceae familyası, *Medicago* cinsi ve *sativa* türünde yer almaktadır. *Medica sativa*, *Medicago afganica*, *Medicago asiatica* subsp. *Medicago mesopotamica*, *Medicago polia*, *Medicago praesativa*, *Medicago praesativa* subsp. *spontanea*, *Medicago sativa* f. *Alba* gibi birçok isimle anılmaktadır. Yüksek biyokütle verimi ve pedoklimatik koşulların geniş varyasyonlarına iyi adaptasyonu sayesinde Afrika, Asya, Avrupa, Avustralasya, Kuzey Amerika, Güney Amerika gibi

dünyanın birçok ülkesinde doğallaştırılarak yetiştirilmektedir (Lahrizi et al. 2021; Al-Snafi et al. 2021).

Yonca, yüksek verim ve yem kalitesi nedeniyle "Yemlerin Kraliçesi" olarak bilinir. Dünya çapında et ve süt üretim sistemleri için temel bir bitkisel protein kaynağı olarak kullanılmaktadır (Galindo-Sotomonte et al. 2023). Ayrıca, yaygın olmasa da filizleri insan beslenmesinde tüketilmekte, yaprak ve tohumları ise sağlık, gıda marketlerinde besin takviyesi olarak kapsül veya tablet şeklinde satılmaktadır. Yonca, zengin besinsel içeriğiyle her dönemde dikkat çeken bir bitki olmuştur. Yapılan analizlerle, yoncada protein, karbonhidrat, saponin, lignin, fenolik bileşikler, tanen, alkaloidler, triterpen glikozitler, karotenoidler, steroller, fitoöstrojenler, flavonlar, izoflavonoidler ve fenolik bileşiklerin varlığı tespit edilmiştir (Al-Snafi et al. 2021). Bu zengin içeriğiyle yonca, besleyici özelliklerinin yanı sıra, hastalıklara karşı dayanıklılığı, yaban hayatı için oluşturduğu habitat, toprağın korunması ve ekolojik çevrenin iyileştirilmesi gibi ekosistem faydaları da sağlamaktadır (Brahmbhatt and Kalasariya 2015; Wu 2004). Günümüzde yoğun insan faaliyetleri nedeniyle ekolojik çevre bozulmakta, iklim değişikliği sonucu yem bitkilerinin verim ve kalitesi düşmektedir. Meraların bakımsızlığı ve özellikle ülkemizde yem bitkilerinin tarla arazilerindeki payının yalnızca %12,3 gibi düşük seviyelerde olması, hayvansal üretimi ciddi bir darboğaza sokmuştur (Ulker vd. 2020). Yonca, çimlenme ve erken fide dönemlerinde, özellikle ekim yılı ve takip eden birkaç yıl boyunca kuraklık koşullarından önemli ölçüde etkilenmektedir. Bu dönemlerde yonca, kuraklık stresine oldukça hassastır ve kuraklık, bitkinin gelişimini ve verimliliğini olumsuz yönde etkileyebilir. Çimlenme ve fide dönemindeki bu stres, bitki sağlığını büyümesini ciddi şekilde bozabilir. Bu durum, yonca yetiştiriciliği açısından önemli bir risk faktörü olarak değerlendirilmelidir. Kuraklık stresinin, yoncada büyüme ve gelişmeyi yavaşlatma, bitkiyi zayıflatma, verimi ve besin değerini düşürme gibi olumsuz etkileri vardır. Ayrıca kuraklık, yoncada fotosentez, su tutma kapasitesi, protein sentezi ve antioksidan savunma sistemi gibi birçok fizyolojik ve biyokimyasal süreci olumsuz etkilemektedir (Tiryaki 2016; Özkurt vd. 2019; Arslan vd. 2020). Bununla birlikte, kimyasal gübrelerin aşırı kullanımına ilişkin endişeler ve artan gübre fiyatları, biyolojik N₂ fiksasyonunun ekonomik ve ekolojik önemini artırmaktadır. Nitrojenaz enzim kompleksi tarafından katalize edilen bu süreç, bazı prokaryotlara özgü olup bitkiler için yenilenebilir bir azot kaynağı sağlar. Amonyak formunda fikse edilen

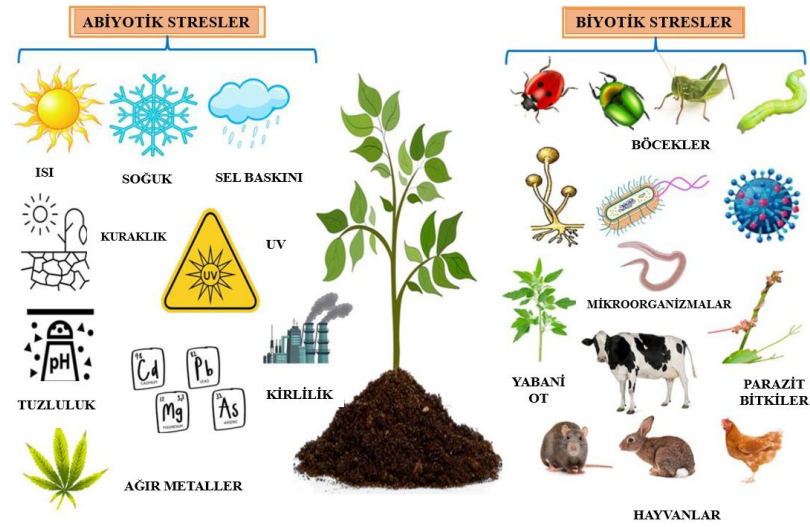
1. GİRİŞ

N₂, amino asitlere ve diğer N içeren bileşiklere metabolize edilir. Yonca, toprağın organik madde miktarını artırarak verimli hale getiren ve toprağın yapısını düzelten bir yem bitkisi olup, bu sayede toprak su tutma kapasitesini artırır ve besin maddelerinin alımını kolaylaştırır (Ulker vd. 2020). Yonca, *Sinorhizobium meliloti* bakterisiyle simbiyotik bir ilişki kurarak havadaki serbest azotu toprağa bağlar. Bu bitki-bakteri ilişkisi, spesifik gen ekspresyonları içerir ve nodül oluşumu ile gelişimi için bir azot kaynağı sağlar. Ayrıca bu ilişki, baklagillerdeki karbon metabolizmasıyla yakından bağlantılıdır (Nap and Bisseling 1990; Hawker and Connell 1985; Caetano-Anolles et al. 1993). Herbisit ve pestisit kullanımı, mahsul verimini artırmada ve bitkilerin verimliliğini sağlamada önemli bir rol oynamaktadır; ancak bu sentetik tarım kimyasallarının aşırı kullanımı, toprağın verimliliğine zarar vermektedir. Bu nedenle endofitlerin ve PGPR (Bitki Büyümesini Uyarıcı Rizobakteriler) bakterilerinin kullanımı, bitki büyümesini, çiçeklenmeyi, meyve tutumunu, üretkenliği ve abiyotik streslere karşı toleransı artırabilecek yeni yaklaşımlar arasındadır (Verma et al. 2016; Govindasamy et al. 2017; Ullah et al. 2019; Kelbessa et al. 2023; Kálmán et al. 2023).

1.2.Bitkilerde Stres Çeşitleri

Bitkilerde stres, büyüme, gelişme ve verimliliği olumsuz yönde etkileyen dışsal faktörler olarak tanımlanabilir (Gull et al. 2019). Küresel iklim değişikliği, artan sıcaklıklar, yağış değişiklikleri ve daha sık görülmeye başlayan hava olayları, bitkiler üzerinde ciddi stres yaratmaktadır. Ayrıca, artan dünya nüfusu beraberinde daha fazla gıda üretme ihtiyacını getirmekte bu da bitkiler üzerinde daha fazla stres oluşturmaktadır. İnsan faaliyetleri, özellikle endüstriyel gelişim ve tarım uygulamaları da bitkilerdeki stresin ana sebeplerinden biriyken bu üç faktör, bitkilerdeki stres faktörlerini çok daha karmaşık hale getirmektedir (Varshney et al. 2018).

Bitki stresi, abiyotik ve biyotik olmak üzere iki ana grupta incelenebilir. Abiyotik stres, çevresel faktörler tarafından uygulanan fiziksel veya kimyasal etkiler sonucu oluşan tuzluluk, kuraklık ve sıcaklık değişikliklerinin yer aldığı gruptur. Biyotik stres ise hastalıklar, böcekler, parazit bitkiler ve nematodlar gibi diğer organizmaların sebep olduğu gruptur (Şekil 1.1) (Umar et al. 2021).



Şekil 1.1. Bitkilerde abiyotik ve biyotik stresler (Kumar et al. 2023).

Bitkiler hareket edemedikleri için çevresel streslere karşı savunmasızdır ve bu stres faktörlerine karşı dayanmak zorundadır. Eğer stres etkisi kısa süreli ve hafifse, bitkiler bu durumdan kurtulabilir, geçici fizyolojik tepkiler gelişebilir. Ancak daha şiddetli stres koşulları çiçeklenme, tohum oluşumunu engelleyebilir ve bitkilerin ölümüne neden olabilir (Zhang et al. 2022). Bitkiler çevresel streslere karşı son derece karmaşık ve çeşitlenmiş tepkiler gösteren organizmalardır. Özellikle abiyotik stres faktörleri, bitkilerin biyolojik sistemlerinde büyük değişikliklere yol açabilir, bu da onların büyüme, gelişim ve üretkenliklerini olumsuz yönde etkiler. Mitokondri ve kloroplast gibi organeller, çevresel streslere karşı son derece duyarlıdır ve stresli koşullar altında bu organellerde biyogenez değişiklikleri meydana gelebilir. Stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, DNA hasarı, enzim aktivitelerinde azalma ve membranlarda lipid peroksidasyonu (LPO) gibi durumlar gözlemlenebilir. Bu durumlar, hücre bileşenlerinin tahrip olmasına, hücre ve doku ölümüne yol açabilir (Miller et al. 2010; Lushchak 2011). Bu tür olumsuz etkilerle başa çıkabilmek için bitkilerde çeşitli koruyucu ve adaptasyon mekanizmaları devreye girer. Bu mekanizmaların etkinliği, hücresel homeostazinin korunabilmesi için oldukça önemlidir (Göksoy ve Turan 1991).

1.2.1.Kuraklık stresi

2050 yılına kadar dünya nüfusunun 9,7 milyara ulaşacağı ve nüfusun büyük bir kısmının geçimini tarımdan sağlayabileceği tahmin edilmektedir. Bu durum, özellikle gelişmekte olan ülkelerde tarımın ekonomik ve gıda güvenliği açısından büyük önem taşıyabileceğini göstermektedir. Ancak tarımsal uygulamaların çoğu, sulama sorunları, küçük arazi mülkiyetleri, kaliteli tohum temini zorluğu ve mekanizasyon eksiklikleri gibi sorunlarla karşılaşmaktadır. Tüm bunlar uygun olmayan topraklara, toprak erozyonuna ve doğal afetlere yol açmaktadır. Tarımsal üretim, biyotik (böcekler, virüsler, bakteriler vb.) ve abiyotik (kuraklık, sıcaklık dalgalanmaları, toprak tuzluluğu vb.) stresler gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Biyotik stresler, bitkilerde hasat kayıplarına neden olurken abiyotik stresler bitkilerin büyümesini engeller ve verim kaybına yol açar. Özellikle kuraklık, bitkilerin büyüme ve gelişimini önemli ölçüde olumsuz etkileyen başlıca abiyotik streslerden biridir (Jacques et al. 2021).

Kuraklık, su kaynaklarının yetersizliğiyle tetiklenen uzun süreli bir iklimsel süreçtir ve genellikle yağışlardaki azalmayla ilişkilidir. Dört ana kategoriye ayrılır: meteorolojik kuraklık, hidrolojik kuraklık, toprak su seviyelerinin azalmasıyla ilgili tarımsal kuraklık ve sosyo-ekonomik etkilerle ilgili kuraklık. Kuraklık, yer altı su seviyelerini düşürür, su kalitesini bozar, toprak erozyonunu artırır ve diğer felaketlere yol açar. Birleşmiş Milletler'e göre, 2018'de yaklaşık 55 milyon insan kuraklıktan etkilenmiş ve 2030'a kadar 700 milyon insan da risk altında olacaktır. Kuraklık koşullarına uyum sağlamada başarılı olan bazı bitkiler dışında, çoğu bitkide ciddi sorunlara yol açar. Özellikle gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde, kuraklık hem ekolojik hem de ekonomik açıdan önemli bir tehdit oluşturmaktadır (Ahluwalia et al. 2021).

Bitkilerde Kuraklık Stresinin Nedenleri

Küresel ısınma, yağış düzeni, sıcaklık ve atmosferik CO₂ seviyelerinde artışa neden olarak birçok bölgede kuraklık stresini artırmaktadır. Dünya çapında yaygın kuraklık koşullarına yol açmakta ve bu süreçte yüksek sıcaklık, yoğun ışık ve kuru rüzgar gibi faktörler, topraktan su kaybını artırarak mevcut kuraklık durumunu daha da kötüleştirmektedir. Küresel iklim değişikliğinin etkisiyle, kuraklık yalnızca doğrudan su

eksikliğiyle değil, aynı zamanda tuzluluk gibi diğer faktörlerle de ilişkilidir. Yaşanan tüm bu süreçler bitkilerin su kaybını artırmakta ve su stresine yol açmaktadır.

Küresel ısınma, bazı bölgelerde tarımsal üretkenliği artırabilirken çoğu zaman zararlı etkileri olmaktadır. Yükselen sıcaklıklarla su buharlaşması artarak toprakta ve bitkilerde su kaybına yol açar. Bu durum, su açığı sorunlarını derinleştirmekte ve dünya genelinde özellikle su kaynakları kısıtlı bölgelerde tarımsal üretimi olumsuz etkilemektedir. Ayrıca buzulların erimesi su rezervlerinin azalmasına neden olmakta bu da mahsuller için suyu sınırlamaktadır. Küresel ısınma, yağmurla beslenen tarım alanlarında yıllık yağış miktarını azaltırken, sıcaklık artışı bitkilerdeki iç suyun kaybını hızlandırarak kuraklığı tetiklemektedir. Bunun sonuncu olarak özellikle 21. yüzyılın sonuna kadar dünya nüfusunun büyük bir kısmını ciddi su açığı riskiyle karşı karşıya kalacaktır (Seth and Sebastian 2024).

Yağışlar, sulama yapılmayan alanlarda kuraklık stresinin belirleyici faktörüdür. Yağışların yıllık dağılımı ve yoğunluğu, su kaynaklarının yönetimini ve kuraklık olaylarının sıklığını doğrudan etkiler. Sanayileşme, ormansızlaşma ve kentleşme gibi insan faaliyetleri, yağış düzenlerini değiştirerek bitkilerin su kaynaklarına erişilebilirliğini etkilemektedir (Seleiman et al. 2021).

Kuraklık Stresinin Bitkide Morfolojik Etkileri

Bitki kuraklık stresıyla karşılaştığında önce dış formunda ve iç yapısında değişiklikler olur. Su kaybıyla birlikte bitkide büyüme gerileyebilir ve ölebilir. Abiyotik stres altındaki bitkiler fenotipik esneklik yoluyla değişen çevresel faktörlere uyum sağlayabilir. Hareketsiz organizmalar olan bitkiler, belirli adaptif özellikler ve olumsuz koşullara uyum sağlama yeteneği geliştirmek zorunda kalmıştır. Uyum, olumsuz koşullar altında büyümeye yardımcı olan gelişimsel, morfolojik ve fizyolojik özellikleri içerir. Uyum sağlama (sertleşme), yeni çevre koşullarına adapte olmaktan sorumlu yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri içerir (Yang et al. 2021).

Vejetatif dönemde suyun azlığı, bitki morfolojisinde belirgin değişimlere yol açar. Bu değişimler arasında bitki boyunun kısa kalması, yaprak solması, yaprak sayısı ve

1. GİRİŞ

yüzey alanında azalmalar sayılabilir. Bitki boyundaki kısalma, hücre genişlemesi ve bölünmesinin yavaşlaması, yaprak senesansı ve mitozun bozulması gibi fizyolojik süreçlerle ilişkilendirilir. Yapraklar, su yokluğunda bitkinin ilk tepki verdiği organlardandır. Kuraklık stresi altındaki yapraklar genellikle daha küçük alanlara, artmış kalınlığa ve yüksek doku yoğunluğuna sahip olur. Bu yapısal değişiklikler, su kaybını azaltmaya ve fotosentezi optimize etmeye yönelik adaptasyonlardandır. Yaprak alanındaki azalma, turgor basıncının düşmesi, yaprak sıcaklığının artması ve fotoasimilat (nişasta, şeker vb.) üretiminin azalmasıyla ilişkilendirilir. Yaprakların epidermisinde kütikül tabakası kalınlaşarak, su buharı kaybını sınırlar ve bu da bitkinin su dengesini korumasına yardımcı olur. Yaprak anatomisi, kuraklığa uyum kapsamında yeniden şekillenir. Palizat parankiması artarken süngerimsi doku azalır, hücre tabaka sayısı artar fakat hacimleri küçülür. Hücreler arası boşlukların azalması, suyun daha verimli kullanılmasını sağlar. Ayrıca stomaların boyutu, açıklığı ve yoğunluğu kuraklıkla birlikte değişir; bu durum gaz değişimini ve transpirasyonu doğrudan etkiler (Jarin et al. 2024).

Kök sistemleri de kuraklık koşullarında etkilenen bir diğer organdır. Su alımını artırmak amacıyla yapısal değişiklikler yaparak su alımını artırmaya çalışır. Derinleşen ve dallanan kök sistemleri, toprakta sınırlı olan su kaynaklarına ulaşımı kolaylaştırır. Kuraklık; kök kıllarının uzamasını, ince köklerin oluşumunu ve kök yoğunluğunu etkileyerek su alım verimliliğini şekillendirir. Bu değişimler, köklerin toprakla temas yüzeyini artırarak su alımını desteklerken hafif su stresi koşullarında kök büyümesi büyük oranda korunur, sürgün gelişimi kısıtlanır. Bu da kök/sürgün oranında artışa neden olur (Kang et al. 2022).

Kuraklık ayrıca besin maddelerinin alınması ve taşınmasında da aksamalara yol açar. Topraktaki suyun azalması, besin çözünürlüğünü düşürdüğü için bitki dokularında azalan besin konsantrasyonlarına sebep olur. Su eksikliği altında azot içeriği artabilirken, fosfor ve kalsiyum seviyelerinde düşüş görülür. Hücre zarlarının bozulması, iyon dengesizliklerine ve mineral taşınımının aksamasına yol açar. Genel olarak kuraklık stresi, bitkilerin morfolojik, anatomik ve fizyolojik özelliklerini çok yönlü şekilde etkileyerek büyüme, gelişme ve verimi sınırlandırmaktadır. Bitkiler bu koşullara karşı, gen ekspresyonlarını yeniden düzenleyerek ve çeşitli savunma metabolitlerini sentezleyerek uyum için adaptasyon mekanizmalarını devreye sokar. Bu süreçte

fotosentez, antioksidan üretimi ve ozmotik denge gibi hayati olaylar yer almaktadır (Hussain et al. 2019).

Kuraklık Stresinin Bitkide Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri

Bitkiler kuraklık stresine maruz kaldıklarında, morfolojik değişiklikler meydana gelir, bu durum bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerinde kapsamlı dönüşümlere yol açar. Özellikle fotosentez hızındaki azalma, ozmotik dengeyi sağlayan maddelerdeki artış veya azalış, kuraklığa özgü proteinlerin sentezlenmesi ve antioksidan enzim sistemlerinde meydana gelen değişiklikler, bitkilerin bu strese karşı verdikleri yanıtları yansıtmaktadır (Yang et al. 2021).

Fotosentez, bitkilerin kuraklık stresi altında en erken ve en belirgin şekilde etkilenen hayati süreçlerindendir. Yapraklarda gerçekleşen bu olay, bitkinin büyümesi ve biyokütle üretimi için gerekli olan maddeleri sağlar. Net fotosentez oranı, birim yaprak alanı başına üretkenliği yansıtarak bitkinin biyolojik verimliliğini değerlendirmek için güvenilir bir ölçüt olabilmektedir. Kuraklık şartlarında, topraktaki su içeriğinin azalmasına bağlı olarak fotosentez ve terleme oranlarında düşüşler yaşanır. Bu azalmalar stomal ve stomal olmayan (nonstomal) sınırlamalar olmak üzere iki faktörle ilişkilendirilir. Hafif kuraklıkta fotosentez düşüşünün ana nedeni stomaların kapanması iken, şiddetli kuraklık koşullarında mezofil dokulardaki yapısal ve işlevsel bozulmalar da etkili olur (Pilon et al. 2018).

Su kısıtı, hücreler arası CO₂ seviyesinin azalmasına neden olarak stomalar ve mezofil arasında gaz difüzyonunu da sınırlar, fotosentez oranını doğrudan etkiler. Stomaların kapanması, su kaybını azaltır ancak CO₂ girişini de sınırlandırır. Yapılan çalışmalarda kurak mevsimde gölge bölgelerde fotosentezin %28, alt bitki örtüsünde ise %17 oranında azaldığı belirlenmiş ve bu azalmanın temel nedeninin stomal kapanma olduğu savunulmuştur (Santos 2017).

Fotosentez, esas olarak kloroplastlarda gerçekleştiğinden klorofil pigmentleri tarafından yönetilir. Kuraklık stresi altındaki bitkilerde klorofil miktarında belirgin azalmalar görülür; özellikle klorofil a, b ve karotenoid pigment oranlarında değişiklikler

1. GİRİŞ

meydana gelir. Bu değişiklikler, fotosentetik verimliliği etkilemektedir (Rahbarian et al. 2011; Ucak and Arslan 2023).

Bitkilerde CO₂ asimilasyonu üç temel yolla gerçekleşir: C3, C4 ve Crassulacean Asit Metabolizması (CAM). Kuraklık koşullarında, C4 fotosentez yolu, C3 yoluna kıyasla daha yüksek su kullanım verimliliğine sahiptir. C4 bitkilerinde görülen Kranz anatomisi, su kaybını minimize ederken CO₂ asimilasyonunu artırır. CAM bitkileri ise stomalarını gece açarak CO₂'yi malik aside dönüştürür ve gündüzleri bu CO₂'yi kullanarak fotosentezi gerçekleştirir. Bu adaptasyon, gündüz saatlerinde terleme yoluyla su kaybını en aza indirir. Kuraklık koşullarında abiyotik stresle birlikte artan absisik asit (ABA) düzeyleri, C4 yolunun etkinliğini artırabilir ve karbon metabolizmasındaki yön değişimlerini tetikleyebilir (Flexas et al. 2004; Taiz et al. 2015).

Fotosentez, kuraklık stresine duyarlılığı nedeniyle genellikle belirleyici bir gösterge olarak kabul edilir. Yapılan araştırmalar, kuraklığın klorofil içeriği, net fotosentez oranı, maksimum kuantum verimi, stoma iletkenliği ve terleme oranları üzerinde baskılayıcı etkiler yarattığını göstermektedir. Bu etkiler, bitkinin genel metabolizması ve verim potansiyelinde azalmaya yol açar. Su stresine bağlı olarak artan ABA üretimi, stomaların kapanmasına neden olur ve bu da hücreler arası CO₂ konsantrasyonunu azaltarak fotosentezin baskılanmasına yol açar. Ancak bu baskılama genellikle geri döndürülebilirdir; stres ortadan kalktığında fotosentez yeniden aktive olabilir (Zhuang et al. 2020).

Stomal kapanma, CO₂ alımındaki azalma Calvin döngüsündeki (karanlık reaksiyonlar) enzimlerin aktivitesini de olumsuz etkiler. Sonuçta ışık ve karanlık reaksiyonları arasında dengesizliğe sebep olarak kloroplastlarda ROS birikmesine neden olabilir. ROS birikimi, tilakoid zarları, fotosentetik pigmentler ve enzimler gibi fotosentetik yapıların hasar görmesine yol açar. Kuraklık stresine bağlı olarak, yapraklardaki klorofil içeriğinde meydana gelen azalma fotosentez oranındaki düşüşü tetikleyebilir. Bu azalma, stresin süresi ve şiddetine bağlı olarak değişiklik gösterebilir (Zhang et al. 2022).

1. GİRİŞ

Karotenoidler, klorofillere kıyasla kuraklığa karşı daha dayanıklıdır. Bununla birlikte, ksantofil döngüsünde yer alan pigmentler (örneğin zeaksantin ve anteraksantin) kuraklık sırasında artış göstererek ROS detoksifikasyonunda koruyucu rol oynarlar. RuBisCO, fotosentezin Calvin döngüsünde CO₂'yi sabitleyen anahtar enzim olup aktivitesi kuraklık stresinde hızla düşer. Bu düşüş fotorespirasyonun artması, kloroplast stromasının asitlenmesi, substrat eksikliği, ATP sentaz aktivitelerinin azalması ve RuBisCO'nun yapısal bozulmaları gibi çok sayıda faktöre bağlı olabilmektedir. Aynı zamanda karbon metabolizmasında yer alan fosfoenolpiruvat karboksilaz, NADP-malik enzim, fruktoz-1,6-bisfosfataz gibi enzimlerin de aktivitesinde belirgin düşüşler meydana gelir (Zhang et al. 2021).

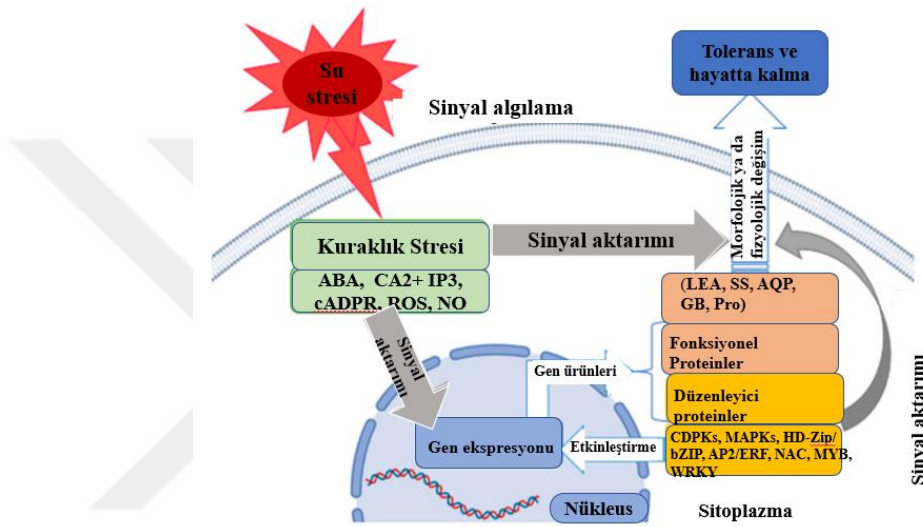
Kuraklık, fotosentezin ışığa bağlı reaksiyonlarını da doğrudan etkilemektedir. Elektron taşıma zincirindeki aksaklıklar, fotofosforilasyonla ATP üretimi sürecini ve NADPH üretimini sınırlayarak kloroplastların genel enerji metabolizmasında aksamalara ve fotosistem I (PSI) ile fotosistem II (PSII) yapılarına zarar gelmesine neden olabilmektedir (Qiao et al. 2024).

Ozmotik düzenleme, bitkilerin su stresi altında hayatta kalabilmesi için geliştirdiği önemli bir adaptasyon mekanizmasıdır. Bu süreç, ozmotik potansiyelin azaltılması yoluyla hücre içi suyun korunmasını ve turgor basıncının sürdürülmesini sağlar. Bitkiler ozmotik düzenlemeyi üç şekilde gerçekleştirir: hücre içi su miktarının azaltılması, hücre hacminin küçültülmesi ve hücre içeriğinin artırılması. Bu düzenleme, her bitkide gözlenmese de stres koşullarına dirençli türlerde yaygın olarak gerçekleşir. Çözülmüş madde birikimini artırarak hücrelerin su çekme kapasitesi yükselir, hücrenin su potansiyel farkını koruyarak düşük dış su ortamında bile su alımı sağlanır. Turgorun korunması, fotosentez için gerekli olan stoma iletkenliğini ve mezofil hücreler arası CO₂ seviyesini desteklemektedir (Wang, et al. 2004). Prolin gibi ozmotik düzenleyici maddeler bu süreçte önemli rol oynar. Vakuollerde depolanan prolin, stres durumunda sitoplazmaya taşınarak hücrenin su tutma kapasitesini artırır. Güçlü nemlendirici görevi gören prolin, hücre yapısını korur, proteinleri stabilize eder ve ROS'u temizleyerek oksidatif zararı azaltır. Ayrıca SOD (Süperoksit dismutaz), CAT (katalaz) ve PPO (polifenol oksidaz) gibi enzimleri aktive ederek bitkinin antioksidan savunmasını güçlendirir, hücre metabolizmasının sürekliliğini sağlar (Liang et al. 2013).

1. GİRİŞ

Kuraklık stresi durumunda bitkiler hem doğrudan koruyucu hem de düzenleyici işlevlere sahip çeşitli proteinler üretir. Bunlar genel olarak 2 grupta sınıflandırılabilir:

1. **İşlevsel Proteinler:** Hücreyi doğrudan koruyan LEA (Geç embriyogenez proteinleri), aquaporinler (AQP), dehidrinler ve bazı enzimler.
2. **Düzenleyici Proteinler:** Sinyal iletiminde görev alan protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri, G proteinleri içerir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Bitkinin kuraklık toleransı süreci (Yang et al. 2021).

Kuraklıkta önemli görevleri olan 3 protein üzerinde durulmuştur. Tohum embriyosunun geç gelişim aşamalarında sentezlenen LEA proteinleri, yüksek oranda hidrofilik, termal stabilitesi olan koruyucu proteinlerdir. 10–30 kDa moleküler ağırlığa sahip bu proteinler, lizin ve glisin gibi polar amino asitlerce zengindir. Bitkilerde 50’den fazla çeşidi bulunan LEA proteinleri, bitki gelişimi, ABA ve dehidratasyon gibi çevresel sinyaller tarafından düzenlenir. LEA proteinleri, kuraklık sırasında α -heliks yapılar oluşturarak hücre zarlarında stabilizasyon sağlar ve su kaybına karşı koruma sağlamaktadır. Yüksek hidrofililikleri sayesinde su moleküllerini bağlayabilir, böylece şiddetli dehidrasyon koşullarında bile hücrelerin metabolik faaliyetlerini sürdürmesine yardımcı olur. Ayrıca rastgele konformasyon sayesinde α -heliks yapılar arasında geçiş yapabilme yetenekleri çevresel strese karşı esneklik kazandırır. LEA proteinleri, kuraklık gibi stres koşullarında oluşan ROS’ları temizleyerek oksidatif hasardan da korur. Bazı

1. GİRİŞ

LEA proteinleri enzim stabilizatörü görevi görerek; SOD, POX (peroksidaz) gibi antioksidan enzim aktivitelerini artırır ve fotosentezle ilişkili enzimleri korur (Aziz et al. 2023).

Dehidrin, kuraklık, tuz, don gibi çevresel streslere karşı bitkilerde sentezlenen LEA-II ailesine aittir, 9–200 kDa arasında moleküler ağırlığa sahip, ısıya dayanıklı ve oldukça hidrofilik bir proteindir. Glisin ve lizin açısından zengin olup, sistein ve triptofan içermez. Dehidrin yapısında üç korunmuş bölge bulunur:

- **K parçası:** Lizin açısından zengin, genellikle C-terminaldedir ve amfipatik α -heliks yapısı oluşturur.
- **S parçası:** Serin kalıntılarından oluşur; fosforilasyonu, proteinin çekirdeğe taşınmasını sağlar.
- **Y parçası:** N-terminalde yer alır; nükleik asit bağlanma bölgelerine benzerlik gösterir.

AQP, plazma membranı ve vakuoler membranlarda bulunan, su taşıyan içsel proteinlerdir ve MIP (Major Intrinsic Protein) ailesine aittir. 26–30 kDa arasında değişen bu proteinler, bitkilerde suyun yanı sıra bazı küçük molekülleri de taşıyabilir. Bitkilerde dört ana AQP çeşidi bulunur:

1. **PIP'ler (Plazma Membran İçsel Proteinleri):** Plazma zarında yer alır ve PIP1, PIP2, PIP3 olarak alt gruplara ayrılır.
2. **TIP'ler (Tonoplast İçsel Proteinleri):** Vakuolar membranda bulunur ve α , β , γ , δ , ϵ gibi alt gruplara ayrılır.
3. **NIP'ler (Nodulin 26 Benzeri Proteinler):** İlk olarak soya fasulyesinde keşfedilmiştir ve su dışında başka molekülleri de taşıyabilir.
4. **SIP'ler (Küçük ve Bazik İçsel Proteinler):** Endoplazmik retikulumda yer alır ve SIP1 ile SIP2'ye ayrılır.

AQP'lerin bitkilerin su dengesini düzenlemede ve stres koşullarına adaptasyon sürecinde kritik rolü vardır (Ahmed et al. 2021; Kapilan et al. 2018; Li et al. 2023).

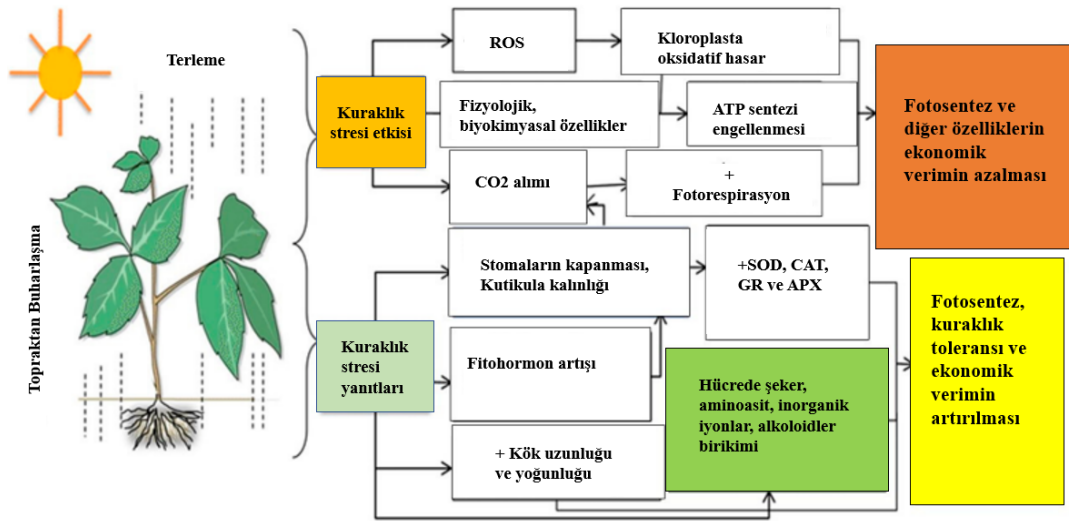
Bitkilerde ROS ve kuraklık stresi:

Oksijen, aerobik canlıların yaşam süreçlerinde hayati öneme sahiptir. Ancak metabolizma sırasında tamamen indirgenmediğinde ROS adı verilen süperoksit radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen ($^1O_2$), hidroksil radikali ($\cdot OH$) ve çeşitli organik radikalleri oluşur. Normal şartlarda bitkiler, ROS üretiminde ve ortadan kaldırılmasında denge kurar. Ancak kuraklık gibi stresler bu dengeyi bozar, ROS üretimi artar ve oksidatif stres meydana gelir. Aşırı ROS üretimi sonucu hücre yapısını bozabilen LPO, protein denatürasyonu, DNA hasarı gibi zararlı etkiler meydana gelir. (Mishra et al. 2023). Kloroplastlar, bitkilerde ROS üretiminin ana kaynağıdır. Bitkilerde su eksikliğinde, ışık enerjisinin emilim verimliliği azalır. Bitkilerde CO_2 'in bloke edilmesi, $NADPH^+$ 'de azalmaya ve O_2 'ye fotosentetik elektron transfer oranında göreceli bir artışa neden olur. Oksijen ve diğer oksitleyici bileşikler O_2^- oluşturmak için elektron alıcıları olarak kullanılır. O_2^- bitkilerde büyük miktarda ROS üretmek için bir dizi zincirleme reaksiyonu artırabilir. Mitokondriler ise diğer önemli ROS üreten organeldir. Solunum zincirindeki elektron transferi sürecinde, bazı elektronlar kompleksler arasında kaçarak O_2 'nin O_2^- oluşturmaya sebep olur. Bitkilerdeki ROS ayrıca plazma membranında ve plazmidde de üretilir. NADPH oksidaz, pH'a bağlı hücre duvarı peroksidazı, oksalat oksidaz ve plazma membranındaki amin oksidazın hepsi ROS kaynaklarıdır. Ayrıca endoplazmik retikulumdaki ve siklooksijenaz, peroksidaz ve lipoksijenaz gibi diğer organellerde gerçekleşen reaksiyonlar yoluyla da ROS üretilir (Singh et al. 2016).

ROS, bitki biyofilm sistemlerini tahrip edebilir. Örneğin, $\cdot OH$ doğrudan fosfolipitlerdeki doymamış yağ asidi zincirinin peroksidasyon ayrışmasını indükleyerek membran yapısını tahrip edebilir. Ancak ROS'daki peroksitler ve NO (Nitrik Oksit) esas olarak düşük aktiviteye sahip NADPH oksidaz, glutatyon oksidaz ve NO sentaz tarafından üretilir, bu nedenle lipitlerle doğrudan etkileşime girerek LPO'yu indükleyemezler. Peroksinitrit, LPO reaksiyonunu başlatan antioksidan olarak hızlı bir şekilde reaksiyona girebilir. Membran yapısının doğrudan tahrip edilmesi bir dizi biyolojik işlev bozukluğuna yol açmaktadır. ROS ayrıca bitkilerdeki biyomakromolekülleri de parçalayabilir. Neredeyse tüm proteinler veya enzimler ROS oksidasyonu tarafından hasar görebilir. ROS, protein fonksiyonunun azalmasına veya kaybına, peptit zincirinin kırılmasına, protein çapraz bağlanmasına, amino asit

1. GİRİŞ

kalıntılarının dönüşümüne ve immünokimyasal özelliklerde de değişikliklere yol açabilir. ROS'un proteine verdiği hasar esas olarak karbonilasyon ve glikozilasyon yoluyla gerçekleşir. Oksijensiz radikaller, enzimin aktif merkezindeki sülfidril grubuyla etkileşime girerek onu disülfür bağlarına oksitleyebilir ve bu da enzimin inaktivitesine neden olur. ROS, enzim aktivitesinin kaybı yoluyla dolaylı olarak bitki büyümesini ve gelişimini bozabilir. ROS ayrıca DNA moleküllerindeki purinler, pirimidinler ve deoksiribozla etkileşime girerek DNA'nın tek veya çift zincirlerinin kırılmasına, bozulmasına ve modifikasyonuna neden olarak genetik materyale zarar verebilir. Bitki hasarının toksik etkilerine ek olarak, bitkilerdeki ROS ayrıca dış strese direnme, bitki büyüme ve gelişimini düzenleme sürecinde de rol oynar. Oksidatif patlama, ROS'un bitki savunma tepkisinde yer aldığı önemli bir süreçtir. Patojen bitkiyi enfekte ettiğinde, bitki oksidatif patlama yoluyla büyük miktarda ROS üretir ve bu da patojeni doğrudan öldürür. Biyotik strese ek olarak, ROS aynı zamanda abiyotik strese yanıtta da önemli bir düzenleyici rol oynar (Şekil 1.3) (Hasanuzzaman et al. 2020; Mittler et al. 2022; Samanta et al. 2024).



Şekil 1.3. Kuraklık stresinin bitkide etkileri ve yanıtları (Seleiman et al. 2021).

Bitkilerde ROS'a karşı görev yapan başlıca enzimler:

Bitkilerde, ROS'lardan dolayı oluşan hücre hasarını önlemek için enzimatik ve enzimatik olmayan çeşitli antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu sistemler koordineli olarak çalışır; ROS üretimi ve temizlenmesini dengede tutarak stres hasarını azaltır ve bitkilerin kuraklık stresine uyumunu sağlar (Laxa et al. 2019).

1. GİRİŞ

Enzimatik antioksidanlar:

- SOD, ROS savunmasında ilk basamağı oluşturan enzimdir. O_2^- 'yi H_2O_2 'ye çevirerek zararlı etkiyi azaltır. SOD aktivitesi genellikle stres koşullarında artar, fakat stres şiddetli ve uzun süreliyse bu aktivite azalabilir.
- CAT ve POX, H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalayarak ROS seviyesini düşüren iki enzimdir.
- APX, GR, DHAR, MDHAR, bu enzimler de H_2O_2 'yi ortadan kaldırmada kritik rol oynar ve ikinci savunma hattını oluşturur.
- GPX, lipid peroksidleri yok eder, üçüncü savunma hattı olarak görev yapar.

Enzimatik olmayan antioksidanlar:

- Askorbik asit (AsA), glutatyon (GSH), E vitamini, mannitol, karotenoidler, flavonoidler gibi küçük moleküller ise doğrudan ROS'larla reaksiyona girer veya enzimlerin substratı olarak görev yapar.
- Özellikle AsA, O_2^- ve $^1O_2$ gibi ROS'ları doğrudan temizler, APX'e elektron vericisi olarak destek olur ve lutein döngüsünde fotokoruma sağlar. Oksidasyon ürünleri serbest radikal reaksiyonlarını durdurur.

AsA-GSH döngüsü ise bitkilerdeki en önemli ROS temizleme yollarından biridir:

- AsA, APX'e elektron vererek H_2O_2 'yi temizler.
- Oluşan MDHA, MDHAR tarafından indirgenir veya DHA'ya dönüşür.
- DHA, DHAR tarafından tekrar AsA'ya indirgenir.
- GSSG, GR tarafından GSH'ye dönüştürülür.

Bu çoklu sistemler sayesinde bitkiler, ROS hasarı minimum seviyeye indirilir ve stres koşullarında bitki hayatta kalabilir (Cruz de Carvalho 2008; Hasanuzzaman et al. 2020).

Bitkilerde Kuraklıkla Mücadele Yöntemleri

Kuraklığın tekrarlaması, stresin oluşturacağı hasarları azaltmak adına önemli hale gelmiştir. Yapılan araştırmalar, bitki stresiyle mücadele etmek ve çorak alanları ekilebilir

hale getirmek için sürdürülebilir tarım alanlarına odaklanmıştır. Kuraklık stresini azaltmak için son zamanlarda kullanılan bazı yöntemler arasında film bazlı tarım, kuraklığa dayanıklı mahsullerin geliştirilmesi, nanopartiküllerin (NP) tarımda kullanımı, süper emici hidrojel, biyokömür kullanımı ve bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin kullanımı yer almaktadır.

Film bazlı tarım, bitki yetiştirilmesinde hidrojel filmlerinin kullanıldığı bir sistemdir. Hidrojel, 60 cm genişliğinde, 0,06 mm kalınlığında, suyu tutabilen ince bir polimer filmidir. Bu teknikte sera ve damla sulama sistemiyle birlikte uygulanabilmektedir. Damla sistemi, filmin üstüne ve altına yerleştirilerek bitkilere eşit su ve besin sağlar, su miktarı kontrol cihazıyla düzenlenir. Bitki kökleri hidrojelin küçük gözeneklerinden geçemeyecek kadar incedir, böylece bitkiler suyu yüksek basınçla alıp kaliteli besin emebilir. Film bazlı tarımın avantajları çok az toprak, su, gübre ve enerji gerektirmesidir; verimi yüksektir ve besin açısından zengin ürünler sağlar. Çöllerde ve beton yüzeylerde bile üretim yapılabilir. Ancak zaman alıcı olması, yoğun emek gerektirmesi, ekonomik olarak maliyetli olması, büyük araziler ve sera gerektirmesi gibi sebeplerden yaygın olarak tercih edilmemektedir (Mori 2015; Batista et al. 2019).

Biyokömür, biyokütlenin oksijenle sınırlı pirolizi ile oluşan karbon açısından zengin bir maddedir. Biyokömürün bitki stres giderici olarak kullanımı, toprak verimliliğini, besin alımını, büyümesini artırma ve stres altındaki bitkilerde su tutma kapasitesini iyileştirmesi sebebiyle son birkaç yılda önemli ölçüde artmıştır (Khan et al. 2024).

Bitkiler, kuraklık stresıyla mücadelede ozmotik düzenleme, fitohormon üretimi, terleme oranını azaltma, ekzopolisakkarit (EPS) üretimi gibi çeşitli stratejileri de kullanır. Gen keşfi ve manipülasyonu ile yüzlerce kantitatif özellik lokusu (QTL) tanımlanmış ve bu sayede sinyal yollarındaki proteinler, transkripsiyon faktörleri ve enzim öncülleri kuraklık toleransını sağlayacak şekilde değiştirilebilmiştir. Bu modifikasyonlarla fitohormon üretimi ve ozmotik ayarlamalar iyileştirilmiştir (Seleiman et al. 2021). Transgenik bitkilerle abiyotik strese karşı verimlilik ve adaptasyon sağlanmıştır. Örneğin, ABA kontrollü ekspresyona sahip transgenik çeşitler geliştirilmiş; prolin üreten transgenik tütün bitkilerinde su stresi altında kök biyokütlesi artışı gözlemlenmiştir. Bu

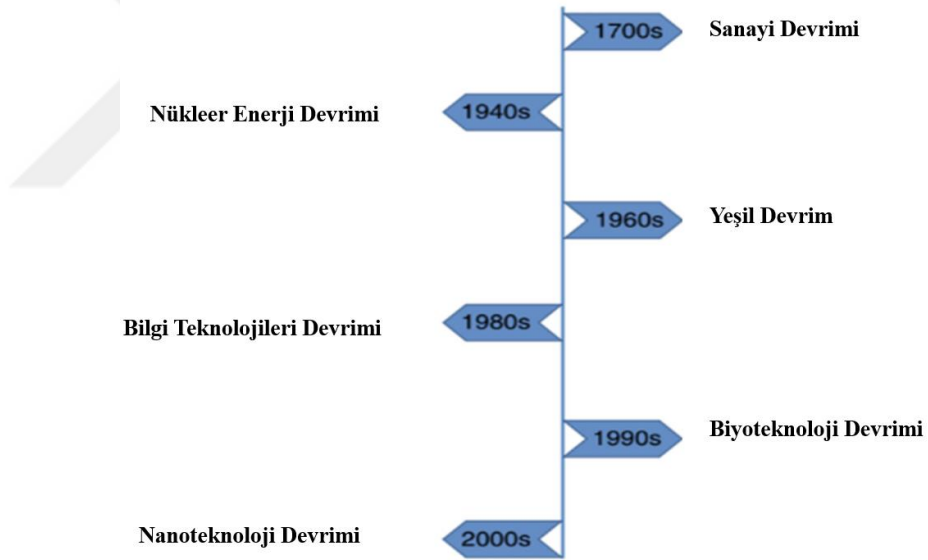
gelişmeler sayesinde transgenik bitkilerin geleceğine katkı sağlayabileceği görülmüştür. Ancak yöntemin dezavantajları da vardır; zaman alıcı ve zahmetlidir, konak gen havuzundaki diğer yararlı özellikler de bu süreçte kaybolabilir. Ayrıca kuraklık algısı ve adaptasyon mekanizmaları hala tam anlaşılamadığı için genetik manipülasyon uygulamaları da zorlaşmaktadır. Çapraz tozlaşma riski olduğundan genetiği değiştirilmiş bitkiler, normal bitkilerle tozlaştığında sonuçlar belirsizleşebilir. Bu nedenle avantajlarına rağmen yaygın olarak kullanılmamaktadır (Riduan et al. 2024; Wang et al. 2024).

Nanopartiküller (NP), yüksek yüzey alanı, reaktivite, ayarlanabilir gözenek boyutu ve çeşitli morfolojileriyle özgün fizikokimyasal özelliklere sahiptir. Kuraklık stresıyla mücadelede NP'lerin kullanımı yeni ve başarılı olan bir yaklaşımdır. Silisyum, gümüş, çinko, titanyum dioksit ve demir NP'leri; fotosentezi artırır, malondialdehit (lipit hasar göstergesi) düzeyini azaltır, bağıl su içeriğini yükseltir, kök ve sürgün gelişimini destekler. NP'lerin kuraklık toleransını artırma mekanizması tam olarak bilinmemesine rağmen bazı çalışmalar su geçirgenliği ve tohum çimlenmesinden sorumlu aquaporinleri düzenleyerek çimlenme oranlarını yükselttiğini göstermiştir. Ayrıca fotosentez hızını artırma, kloroplastların ışık Emilimini iyileştirme, fotosistemler arası ışık dağılımını düzenleme ve su-oksijen üretimini destekleme gibi rolleri de vardır. NP'lerle ROS üretimi arasındaki ilişki karmaşıktır. Bazı çalışmalar NP'lerin yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiler oluşturduğunu gösterse de toksik olmayan dozlarda bitkileri kuraklık stresine hazırladığını bitki savunma sistemini desteklediğini göstermiştir (Chandrashekar et al. 2023; Sen et al. 2025).

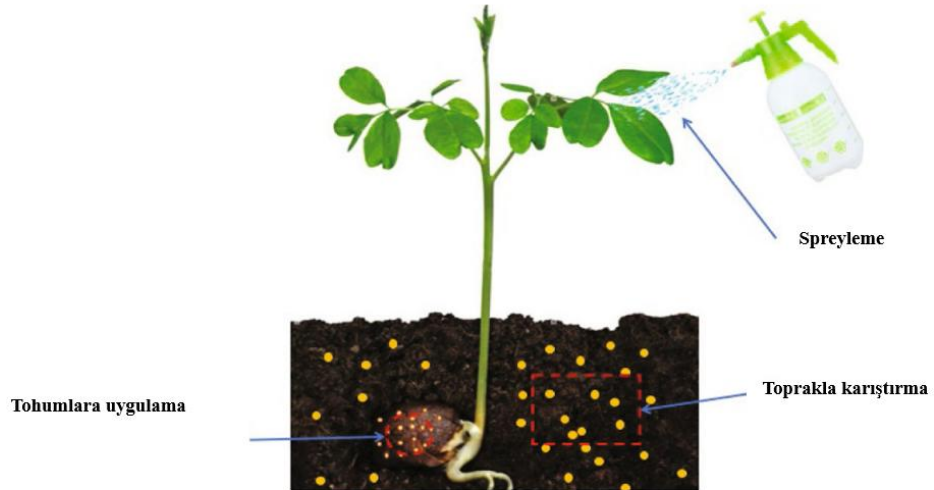
PGPR, kök eksüdatlarıyla desteklenen rizosferde yaşayan ve bitki büyümesini teşvik eden mikroorganizmalardır. Rizosferdeki çeşitlilikleri, toprağın fizyolojik koşullarına ve besin içeriğine bağlı olarak değişmektedir. Kökleri kolonize ederek bitkilere fayda sağlarlar. Kemotaksi, hareketlilik, lipopolisakkarit (LPS) ve EPS gibi zar proteinleri, pili ve fimbria uzantıları ve kök eksüdatları aracılığıyla bitki kolonizasyonu sağlanmaktadır. PGPR'ler rizosferde simbiyotik veya serbest olarak yaşarken bazıları köke girip endofitik ilişkiler sağlar. Çoğunlukla biyostimülan olarak etki eder, bitki büyümesini doğrudan veya dolaylı destekler. PGPR'lerin bazı örnekleri *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Pantoea*, *Acetobacter* ve *Burkholderia* yer alır (Chieb et al. 2023; Chattaraj et al. 2025).

1.3.Nanoteknolojinin Tarımda Kullanımı

Sanayi Devrimi ve 1960'larda gerçekleşen Yeşil Devrim'in ardından, nanoteknoloji altın devrim niteliğindeki teknoloji olarak ön plana çıkmıştır (Şekil 1.4). Multidisipliner yapıya sahip olan nanoteknoloji; ilaç, kozmetik, elektronik, tarım ve birçok sektörde uygulama alanı bulmuştur. Özellikle ilaç ve ilaç taşıma sistemlerinde uzun süredir kullanılırken tarım ve gıda sektörlerinde daha yeni dönemlerde uygulanmaya başlanmıştır. Nanoteknolojinin tarıma entegre edilmesi yaklaşık 50 yıl önce başlamış olup bu süreçte tarım sektörü önemli ölçüde ilerleme kaydetmiştir. Günümüzde nanoteknolojinin tarımsal uygulamalarında nanogübreler, nanopestisitler ve nanobiyosensörler yer almaktadır. Ürün verimliliği artmakta, doğal kaynaklar daha verimli kullanılmakta ve tarımsal atık miktarı azalabilmektedir. Nanomalzemelerin tarımda kullanımında bitkiye uygulamaları 3 yolla olabilmektedir (Şekil 1.5).



Şekil 1.4. Tarımda önemli teknolojilerin tarihleri (Altabbaa et al. 2023).



Şekil 1.5. Bitkiye NP uygulama şekilleri (Vijayakumar et al. 2023).

1.3.1. Nano Gübreler

Son 50 yılda dünya nüfusunun beslenme ihtiyacını karşılamak için tahıl üretiminde artış yaşanmaktadır. Kimyasal gübrelerin yaygın kullanımıyla birlikte, bu gübrelerin düşük verimi ve çevresel kayıpları ortaya çıkmıştır. Azotlu gübrelerin %50-70'i çevreye karışarak kaybolur, bu durum üretim maliyetlerini artırırken aynı zamanda toprak ve su kaynaklarının kirlenmesine de yol açmaktadır (DeRosa et al. 2010; FAO 2017). Tüm bu sorunlar sebebiyle alternatif olarak geliştirilen nanogübreler, tarımda yeni bir dönemin kapısını aralamaktadır. Nanogübreler, doğrudan bitki besin elementi olarak veya bu besinlerin taşınmasını, kontrollü salınımını sağlayan taşıyıcılar olarak görev yapan nanomalzemeleri içermektedir. NP'ler yüzey alanlarının genişliği sayesinde bitkilere daha etkili bir şekilde ulaşabilmekte, bu da hem verim artışı hem de daha kaliteli ürün elde edilmesini sağlamaktadır (Kah et al. 2018).

Yapılan araştırmalar, nanogübrelerin geleneksel gübrelere oranla %18-29 arasında daha fazla etkinlik sağladığını ve fosfat bazlı nanogübrelerin, örneğin soya fasulyesinde %32 daha hızlı büyüme ile sonuçlandığını göstermektedir. Ayrıca bitki köklerinden gelen kimyasal sinyallere yanıt vererek "akıllı gübre" işlevi görebilmekte ve besin salınımının bitkinin ihtiyacına göre düzenlenmesini mümkün kılmaktadır (Liu and Lal, 2014; Mastronardi et al. 2015). Nanogübreler genellikle gübrelerin yavaş salınımlı hale gelmesini sağlayan kitosan, zeolit, poliakrilik asit, kil mineralleri ve hidroksiapatit

gibi nanoyapılı malzemelerden üretilir. Örneğin, hidroksiapatit ile kaplanmış üre nanoparçacıkları, azotu 60 güne kadar yavaşça serbest bırakırken, potasyum kumlu topraklarda daha verimli kullanılabilmesi poliakrilamid kaplı nanogübrelerle sağlanabilmektedir. Nanogübreler, düşük dozlarda yüksek verimlilik sağlayarak çevresel kayıpları azaltmakta ve tarımsal sürdürülebilirliğe katkı sunmaktadır (Kottegoda et al. 2011).

1.3.2.Nanopestisitler

Tarımda zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan pestisitlerin yalnızca %0,1'i hedef organizmalara ulaşmakta, geri kalan büyük kısmı (%99,9) çevreyi kirletmekte insan sağlığı ve ekosistem üzerinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Aşırı ve düzensiz pestisit kullanımı, zararlı organizmalarda direnç gelişimine yol açmaktadır. Tüm bu sorunlar göz önünde bulundurulduğunda çözüm olarak nanopestisitler geliştirilmiştir. Aktif bileşenlerin yavaş ve kontrollü salınımını sağlanarak daha etkili ve uzun süreli zararlı kontrolü sunar. NP'lerin boyutu, çözünürlüğü artırarak daha az miktarda pestisit kullanımını mümkün kılarak; su, enerji ve maliyet tasarrufu sağlamaktadır. Ayrıca nanoformülasyonlar çevreye ve hedef dışı organizmalara daha az zarar vermektedir. Nanoasefat kullanımı, geleneksel asefata göre toksisitenin azaldığını göstermiştir (Nuruzzaman et al. 2016). NP'ler aynı zamanda antiviral, antibakteriyel ve antifungal özellikler gösterir. Özellikle gümüş ve bakır NP'leri bitkilerdeki patojenlerin etkili şekilde kontrolünde başarılı olmuştur (Baka and El-Zahed 2022).

Nanoherbisitler ise yabancı ot kontrolünde biyolojik olarak parçalanabilir polimerlerle kapsüllenmiş aktif bileşenler kullanılarak daha etkili ve çevre dostu bir çözüm sunar. Atrazinin nanoformülasyonları, hem hedefe yönelik etkili uygulama sağlamış hem de toprağa ve yeraltı sularına olan yayılımını azaltmıştır. Ancak nanopestisitlerin ekotoksikolojik etkileri henüz tam olarak anlaşılmamıştır (Gautam et al. 2018).

1.3.3.Nanobiyosensörler

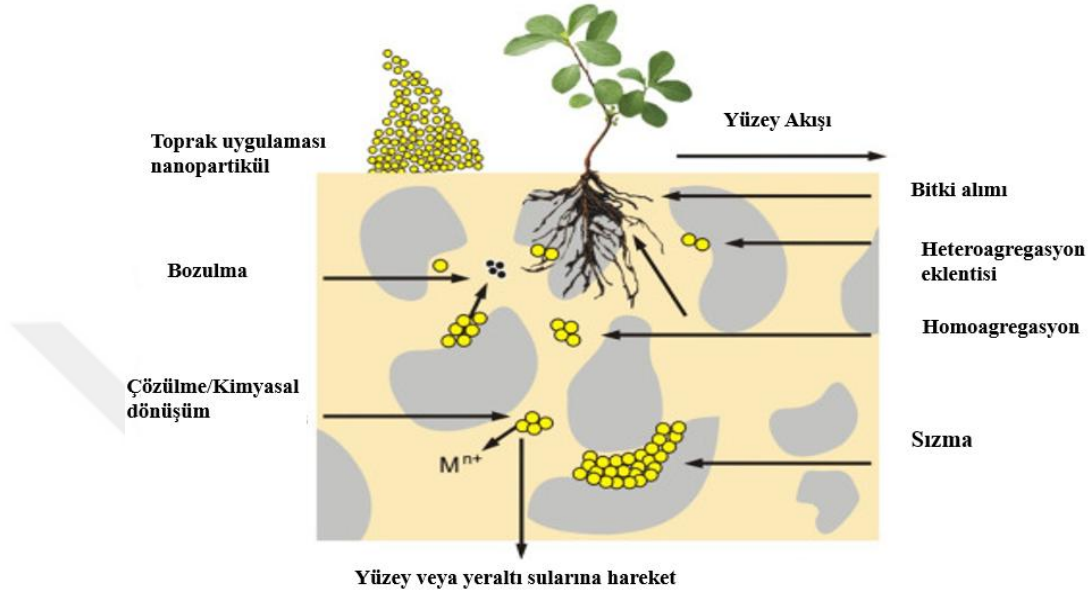
Nanobiyosensörler, çok düşük miktarlardaki maddeleri tespit edebilir. Yüksek hassasiyet, hızlı yanıt, uzun ömürlü kararlılık ve geniş yüzey-hacim oranı gibi avantajları sayesinde, geleneksel sensörlere kıyasla tarımda önemli bir yere sahiptir. Bu sensörler, su, toprak, gübre ve pestisitlerde erken teşhis sağlayarak tarımsal verimi artırabilir. Nanomalzemeler biyoreseptör işlevi görerek, analit tanıma ve sinyal üretiminde etkin rol oynar. Hareketsizleştirme, minyatürleştirme ve biyolojik tanıma kapasitesi kazandırılması sistemin performansını artıran temel tasarım özellikleridir (Scognamiglio et al. 2013; Arduini et al. 2017). Toprakta biriken toksik metal iyonları, ciddi sağlık riskleri oluşturur. Bu kirleticilerin tespiti, elektromanyetik radyasyon kullanan optik sensörlerle yapılır. Özellikle floresan ve yüzey geliştirilmiş Raman saçılması gibi teknikler, nehir suyu ve topraktaki metal iyonlarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılır (Gruber et al. 2018). Neonikotinoidler, organofosfatlar, karbamatlar ve atrazin gibi pestisit kalıntıları, düşük homojenlikleri nedeniyle toprakta uzun süre kalır. Bunların tespitinde antijen-antikor etkileşimli piezoelektrik nanobiyosensörler kullanılır (Ivask et al. 2002). Ancak sınırlı antikor çeşitliliği ve yüksek maliyet, bu teknolojilerin ticari uygulamalarını sınırlamaktadır (Aragay et al. 2012). Bu nedenle verimliliğin artırılması için çoklu örnekleme ve ön işlem süreçleri önerilmektedir. Ayrıca nitrat, nitrit ve üre gibi azotlu bileşiklerin tespiti, gübre yönetimi açısından önemlidir. Nanobiyosensörler bu bileşikleri izleyerek hassas tarıma katkı sağlar. Toprak nemi ve kimyasal içeriğini izleyen nanoyapılı sensörler de bu alanda umut vadetmektedir (Mura and Couvreur 2016).

1.3.4.Nanomalzemelerin Toptaktaki Yolculuğu

Toprakta bulunan doğal ve organik mineraller, nanomalzemelerle etkileşime girerek toprak sistemindeki sıvı ve katı fazlar arasında ayrışmalara yol açabilir. Nanomalzemelerin su ortamlarındaki davranışları ve çevresel kaderi üzerine çok sayıda araştırma yapılmış olsa da topraktaki kaderiyle ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Nanomalzemelerin kararlılığı, reaktivitesi, toksisitesi ve hareket kabiliyeti; çeşitli çevresel süreçler tarafından şekillendirilir. Nanomalzemeler toprakla temas ettikten sonra kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkileşimlere bağlı olarak çeşitli dönüşümlere uğrar (Şekil 1.6). Doğal çevreye girdiklerinde, bu partiküller genellikle kendiliğinden kümelenme eğilimi gösterir. Kümelenme olgusu, nanomalzemelerin yüzey alanını azaltarak

1. GİRİŞ

reaktifliklerini doğrudan etkiler. Bu kümelenme iki şekilde gerçekleşebilir: Homo-kümelenme, nanomalzemelerin kendi aralarında birleşmesiyle oluşurken; hetero-kümelenme, nanomalzemelerin çevredeki diğer parçacıklarla etkileşime girmesi sonucu meydana gelir (Thiagarajan and Ramasubbu, 2021).



Şekil 1.6. Uygulanan NP'lerin topraktaki akıbeti (Usman et al. 2020).

1.3.5. Nanomalzemelerin Toprak ve Bitki Üzerindeki Etkisi

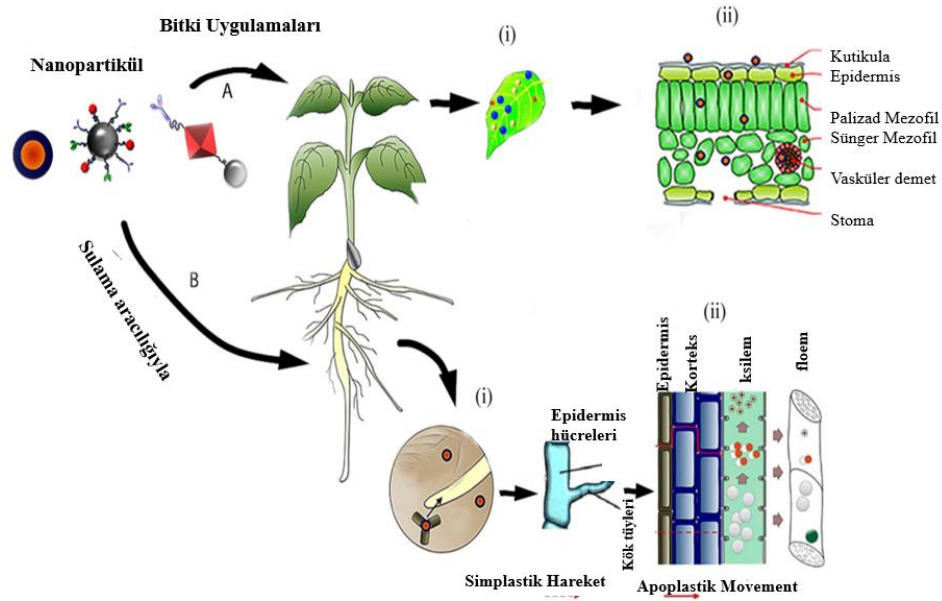
Toprak organik maddesi (TOM) toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini belirleyen temel bir bileşendir. TOM toprakta korunması, verimli tarım ve iklim değişikliğiyle mücadele açısından kritik öneme sahiptir. TOM ayrışma süresi, iklim, toprak özellikleri ve tarımsal uygulamalar gibi hem doğal hem de insan kaynaklı etkenlerden etkilenir.

Nanoteknolojinin tarım uygulanmasıyla TOM'da çeşitli değişiklikler olmuştur. TOM'un yapısı (hidrofilik hümitik asitler ya da hidrofobik bileşikler) ve biyokimyasal özellikleri, nanomalzemelerle etkileşim şeklini belirler. Yapılan çalışmalarda farklı nanomalzeme türlerinin ve dozajlarının TOM üzerindeki etkileri farklı sonuçlar göstermiştir. Örneğin, düşük dozda Ag NP'leri ve bazı metal oksit NP'leri (CuO, Fe₃O₄) TOM üzerinde belirgin bir etki oluşturmazken; TiO₂ NP'leri humik moleküllerle kovalent bağlar oluşturarak TOM'un stabilizasyonunu desteklemiştir. Bu durum mikrobiyal TOM

değişkenlerini ayırışmayı azaltabilir. Ancak ZnO NP'leri mikrobiyal aktiviteyi baskılayarak organik madde ayrışmasını ciddi ölçüde azaltmıştır. Fe₂O₃ NP'leri de CO₂ emisyonlarını düşürerek karbonun toprakta tutulmasına katkı sağlamıştır. Ancak yüksek konsantrasyonlardaki CuO NP'leri, bazı topraklarda TOM içeriğini azaltmıştır (Ge and Holden 2011; Lehmann and Kleber 2015; Sun et al. 2016).

Toprak mikroorganizmaları, toprak kalitesi ve besin döngüsünde önemli rol oynamaktadır. Nanomalzemeler, topraktaki mikroorganizmalarla doğrudan temas halindedir ve yapıları, dozları, toprak özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak mikrobiyal çeşitlilik ve aktiviteler üzerinde hem olumlu hem olumsuz etkiler gösterebilir. Metal ve metal oksit nanomalzemeler (Ag, CuO, ZnO, TiO₂) genellikle daha toksiktir; mikrobiyal biyokütleyi ve enzim aktivitelerini azaltabilir. Biyogenik olanlar ise mikrobiyal topluluklara daha az zarar verdiğiinden çevre dostu alternatiflerdir (Khan et al. 2019).

NP'ler bitkilerin kök epidermisinden geçerek ksilem aracılığıyla yapraklara kadar ulaşır. Bu süreçte hücre zarındaki boyuta özgü gözeneklerden geçer ve stele ulaşmadan önce endodermisin apoplastından pasif olarak geçiş yapar. Alım, genellikle aktif taşıma ile gerçekleşir ve sinyalleme, endositoz gibi hücresel süreçleri içerir (Rico et al. 2011; Tripathi et al. 2015). NP'ler ozmotik basınç, kılcal kuvvetler ve plazmodesma veya simplastik yollarla hücre içine girer. Taşıyıcı proteinler, iyon kanalları ve aquaporinler bu süreçte rol oynar. Hücre içi taşınım plazmodesmata yoluyla gerçekleşir (Şekil 1.7) (Liu et al. 2009; Muller et al. 2017).



Şekil 1.7. NP'lerin bitki hücresindeki yolculuğu (Usman et al. 2020).

Küçük NP'ler hücre duvarını kolay geçerken, büyük NP'ler stomalar, hidatodlar ve stigmalar gibi yapılardan girer. 40 nm ve üzeri partiküller stomalarda birikerek floem aracılığıyla taşınır. Tohum kabuğundan geçişte ise parankima boşlukları ve aquaporinler etkilidir (Gao et al. 2023; Ali et al. 2021). NP'ler konsantrasyon ve yapısal özelliklerine bağlı olarak bitkilerde morfolojik ve fizyolojik değişimlere yol açabilir. Düşük dozlarda uygulanan NP'ler genellikle çimlenme, büyüme ve fotosentezi artırabilir. Örneğin, TiO_2 ve SiO_2 NP'leri soya, ıspanak ve karpuz gibi bitkilerde çimlenmeyi ve büyümeyi teşvik etmiştir. ZnO , Fe_2O_3 ve karbon nanotüpler gibi NP'ler de kallus büyümesi, protein birikimi ve fotosentetik verim üzerinde olumlu etkiler göstermiştir. Ancak yüksek konsantrasyonlarda veya belirli boyutlarda NP'ler fitotoksik etkilere neden olabilir. Bunlar arasında çimlenmenin baskılanması, kök gelişiminin engellenmesi, oksidatif stres, gen ifadesinde bozulmalar ve DNA hasarı yer alır. Özellikle küçük boyutlu CuO ve yüksek doz TiO_2 ve CeO_2 NP'leri toksik etki göstermiştir. NP'lerin bitkiler üzerindeki etkisi; doz, partikül boyutu, yapı, uygulama süresi ve çevresel koşullara bağlıdır. Tarla uygulamaları öncesinde bitki türüne özel testlerin yapılması büyük önem taşır (Rastogi et al.; Al-Salihi, et al. 2022; Singh et al. 2025).

Bitkiler metalik NP'lerle muamele edildiğinde, ROS oluşarak oksidatif strese neden olur. Bu durum, APX, CAT, SOD gibi enzimatik; glutatyon ve fenolikler gibi enzimatik olmayan antioksidanlarla savunma mekanizmasını harekete geçirir. Örneğin,

TiO₂ NP ile ROS üretilip fotositotoksositeye yol açabilirken, aynı zamanda antioksidan savunma sistemini de aktive edebilir. Bazı NP'ler belirli enzimleri uyarır: CeO₂, Pt ve fulleren SOD; Fe₃O₄ ve Au GPX; Fe₂O₄, CeO₂ ve Co₃O₄ ise CAT artırır. Düşük konsantrasyonlarda NP'ler, antioksidan enzim aktivitelerini artırırken, yüksek konsantrasyonlar hücre zarına zarar verebilir (Zhang et al. 2015; Dağhan et al. 2022; Djanaguiraman et al. 2024).

Bitkilerin NP'lere verdiği tepkiler türden türe değişir, ticari uygulamalar öncesinde kapsamlı testler gereklidir. NP'lerin etkisi, özelliklerinin hassas şekilde ayarlanmasıyla optimize edilebilir. Ayrıca, kontrollü koşullardan saha koşullarına geçişi sağlayacak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Nanoteknoloji, entegre tarım ve çevre stratejilerinde önemli bir araç olabilir.

1.4.Kaktüs, Sukulent Türlerinde Endofitik Bakteriler ve Tarımda Kullanımı

Cactaceae (Caryophyllales takımı) familyasına ait yaklaşık 130 cins ve 1.500 tür içeren, sulu bitkilerden oluşan geniş bir gruptur. CAM sayesinde suyu verimli kullanır ve sulu biyokütle üretiminde oldukça başarılıdır. Neotropiklerin en büyük ikinci bitki familyası olan Cactaceae, hızlı büyüme, düşük su ihtiyacı ve besin açısından az olan topraklara uyum gibi özelliklerle tanınır. Özellikle Meksika, Güneybatı ABD, Orta Andlar, Brezilya, Paraguay, Uruguay ve Arjantin gibi bölgelerde çeşitliliği yüksektir. Cactaceae, kurak ve yarı kurak iklimlerde gelişebilen iki ana alt aileye ayrılır: *Cactoideae* (*Hylocereus*, *Cereus*, *Melocactus* vb. cinsleri içerir) ve *Opuntioideae* (*Pereskia* ve *Maihuenia* cinslerini barındırır) (Ortega-Baes, et al. 2009; Amaral et al. 2022; Khan et al. 2024).

Kaktüsler dünya genelinde gıda (meyve, içecekler, tatlılar), kozmetik, süs bitkisi, hayvan yemi, çit, yakacak, inşaat malzemesi ve geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Ayrıca kaktüsler, kuraklık, tuzluluk, UV radyasyonu ve sıcaklık değişimleri gibi farklı çevre koşullarında simbiyotik ilişkiler ve anatomik adaptasyonlar sayesinde hayatta kalır. Kaktüs bitki mikrobiyomu da uzun süre ihmal edilmiş önemli bir biyoçeşitlilik bileşeni olarak öne çıkmaktadır. Bitki sağlığıyla ilişkili ve yeni biyokimyasallar için potansiyel

kaynak olmasına rağmen, özellikle Cactaceae ailesindeki endofit çeşitliliği hâlâ büyük ölçüde belirsizliğini korumaktadır (de Menezes Souza et al. 2023; Chahdoura et al. 2024).

Opuntia ficus-indica, dünya genelinde yaygın yetiştirilen meyve türlerinden biridir ve “dikenli armut” olarak da bilinir. Meyve, kladot ve çiçekleri; besin değeri, terapötik etkileri ve ekonomik önemi nedeniyle geleneksel tıpta uzun süredir kullanılmaktadır. Özellikle meyve kabukları, çevresel streslere ve patojenlere karşı savunmada potansiyel antibakteriyel bileşikler içermektedir. Ayrıca çevresel streslere karşı toprak mikroorganizmalarıyla simbiyotik ilişkiler geliştirme potansiyeline sahiptir (Fonseca-García et al. 2016; Monteiro et al. 2023).

Meksika, *Agave*'nin (Asparagaceae: Agavoideae) evrim ve evcilleştirme merkezi olup, türlerin %58'i bu bölgeye özgüdür. Tarih boyunca *Agave*; gıda, lif, inşaat malzemesi ve içecek üretiminde kullanılmıştır. Farklı iklim koşullarına uyumu, *Agave*'yi çevresel strese dayanıklı tarım sistemleri için cazip kılmaktadır. *Agave americana*, -9 °C'ye kadar dayanıklılığı ve yüksek verimiyle öne çıkmaktadır. Süs bitkisi olarak bilinse de fruktan, lif ve antioksidan üretimiyle tarımda giderek daha fazla değer kazanmaktadır. Ayrıca *Agave* türlerinde, bu bakteriler azot fiksasyonu, fitohormon üretimi ve fosfat çözünürlüğü gibi yollarla bitki büyümesini teşvik eder. Ancak mevcut biyogübrelerin saha koşullarına uyumundaki sorunlar, yerel mikrobiyal suşlara olan ilgiyi artırmıştır. PGPB (bitki büyümesini teşvik eden bakteriler) temelli biyogübreler, kimyasal gübre ihtiyacını azaltarak çevresel sürdürülebilirliğe katkı sunar (Gentry 1982; Nobel 2003).

1.5.Endofitik Bakteriler ve Tarımda Kullanımları

Endofitler, dış enfeksiyon belirtisi göstermeden konak dokuda yaşayabilen mikrobiyal topluluklar olarak nitelendirilmektedir. İlk olarak De Bary tanımlanan kavram, zamanla yaşam döngüsünün bir kısmını konak içinde geçiren tüm mikroorganizmaları da kapsamıştır. Omik teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte hem yetiştirilebilir hem de yetiştirilemeyen endofitler kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır (Ryan et al. 2008; Compant, et al. 2010; Hardoim et al. 2008). Endofitler; mantarlar, bakteriler ve aktinomisetler gibi farklı mikroorganizma gruplarından oluşur. Konak özgüllüğü, kolonizasyon düzeni ve evrimsel ilişkilerine göre sınıflandırılır. Başlıca mantar endofitler

Clavicipitaceae ve *Clavicipitaceae* dışı gruplarda toplanırken, baskın cinsler *Epichloe*, *Cladosporium* ve *Trichoderma*'dır. Bakteriyel endofitler, 16 şubeye yayılan 200'den fazla cinse ait olup, çoğunluğu *Firmicutes*, *Actinobacteria* ve *Proteobacteria* şubelerine dahildir. Öne çıkan cinsler arasında *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas*, *Acinetobacter*, *Microbacterium*, *Bacillus* ve *Brevibacterium* bulunur (Santoyo et al. 2016; Glick 2012). Endofitik kolonizasyon lokal veya sistemik olabilir. Bitki endosferi, endofitler için koruyucu bir niş oluşturur ve bu organizmalar bitki savunmalarını aşarak çevresine uyum sağlar. Endofitik bakteriler zorunlu veya fakültatif olabilir; zorunlu endofitler bitki metabolitlerine bağımlıyken, fakültatif endofitler çevrede serbestçe yaşayabilir ve bitkilere sonradan bulaşırlar (Hiruma 2019; Eid et al. 2021).

1.5.1. Endofitik Bakterilerin Bitki Dokusuna Girişi ve İletimi

Endofitik mikroorganizmanın bitkiye kolonizasyonu, çeşitli salgı ürünleri ve sinyal molekülleri tarafından aracılık edilen birçok mekanizma sayesinde gerçekleşir. Mikrobiyal suşların konak dokusuna bağlanır, LPS ve EPS gibi salgı ürünleri, doğrudan veya dolaylı olarak yapışmayı sağlamaktadır. Flagella, fimbria ve pilus gibi yapısal bileşenler, kolonizasyon sırasında bakteri suşlarının konak dokusuna doğru hareketine yardımcı olur. Bununla birlikte bitkiler, özellikle gen ekspresyon modellerinde, mikrobiyal suşların yüzeylerine bağlanmasından sonra farklı şekilde yanıt verir. Bağlanmadan sonra mikrobiyal suşlar, aktif veya pasif süreçler aracılığıyla aracılık edilebilen konak dokuya girmek için nüfuz etmeye başlar. Pasif nüfuz, zararlı organizmanın neden olduğu kök yüzeyindeki çatlaklarda gerçekleşirken aktif nüfuz, konak dokuya giriş veya çoğalmada yapısal bileşenleri ve salgı ürünlerini içerir (Compant et al. 2010; Reinhold-Hurek et al. 2011).

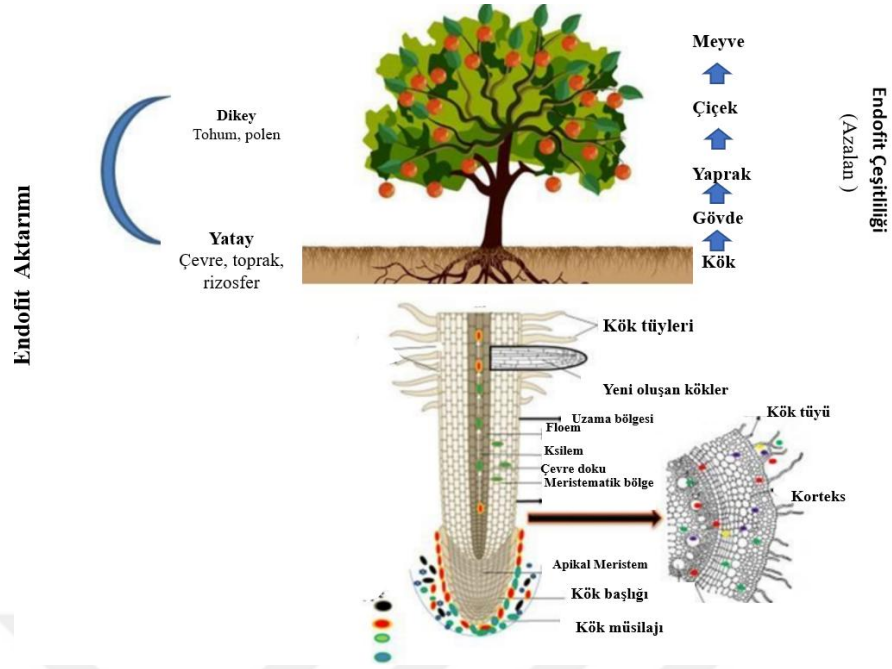
Bitkiye endofitik bakteri temas ettiğinde;

- Bitkiler, yüzey kolonizasyonunu desteklemek için kumarinler, triterpenler, kamaleksin, flavonoidler ve strigolaktonlar salgılar.
- Bitki kök eksüdatları, bakteriler tarafından algılanır; bu durum kamçı, pilus gibi yapılarla simbiyotik bağlanmayı başlatır.
- Bağlanma, LPS ve EPS gibi spesifik polisakkaritlerle stabilize edilir.

- Endofitik bakteriler, CWDE (selüloz, pektinaz vb.) enzimleriyle hücre duvarını değiştirerek kolonizasyonu tamamlar (Nakagami et al. 2024; Steinkellner et al. 2007; Pinski et al 2019).
- Bakteriler, bitki sinyallerine MAMP'ler (flagellin, LPS, Nod faktörleri) ile yanıt verir.
- Bitkiler, bu sinyalleri PRR reseptörleriyle algılar ve MAMP tetiklemeli bağışıklığı (MTI) başlatır.
- Bakteriler T3SS veya T6SS sistemlerine sahipse, bu durum aşırı duyarlı yanıt (HR) ve sistemik edinilmiş direnç (ISR) oluşturur.
- Etki tetiklemeli bağışıklık (ETI) durumunda ise SAR (salisilik asit sinyali) aktive edilir (Alhoraibi et al. 2019; Yu et al. 2022; Kim et al. 2023).

Stoma, yaralar ve kotiledonlar gibi kısımlar endofitlerin tipik giriş yerleridir. Giriş ve penetrasyon süreci sırasında mutualistik ve patojenik suşlar arasında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Patojen mikroorganizmalar mutualistik mikroorganizmalara kıyasla daha yüksek miktarda hücre duvarını parçalayacak enzim salgılar. Mutualistik endofitlerde konakçılar bitki dokularının kolonizasyonunda patojenlere kıyasla moleküler sinyalleme daha derin ve daha hassas bir modülasyonda gerçekleştirir (Frank et al. 2017; Muthu et al. 2022; Rani et al. 2022).

Endofitlerin konakçı içindeki iletimi farklı yollarla olabilmektedir (ortamlar aracılığıyla yatay olarak, tohum, polen taneleri aracılığıyla ebeveynlerden yavrulara aktarılan dikey olarak, yatay ve dikey veya her iki iletim yolunu izleyen karışık yollar). Bakteri türleri genellikle yatay, dikey ve karışık iletim türlerini tercih edebilmektedir. Endofitlerin başarılı bir şekilde kolonizasyonu, konak genotipleri, mikrobiyal suşların doğası ve besin kaynakları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Endofitler, kolonizasyon ve iletim sırasında benzersiz bir yol izlemektedir. Endofitik mikroorganizmalar genellikle apikal köke girmek için suberize olmamış hücreleri tercih etmektedir (Şekil 1.8) (Barraza et al. 2020; Pathak et al. 2022; Zhang et al. 2022).



Şekil 1.8. Endofitik bakterilerin bitkide yolculuğu (Pathak et al. 2022).

1.5.2.Bitki Endofitik Bakteri Etkileşimleri

Endofitler azot fiksasyonu, IAA ve siderofor üretimi, fosfat çözünürlüğü gibi süreçlerle bitki gelişimini desteklemektedir. Özellikle diazotrofik bakteriler, atmosferik azotu bitkilerde kullanılabilir forma dönüştürerek azot desteğinde rol oynamaktadır. *Azoarcus*, *Gluconacetobacter* ve *Herbaspirillum* gibi cinsler azot desteğinde öne çıkanlar olmuştur. Bitkiler topraktan monobazik (H_2PO_4^-) ve dibazik fosfat (HPO_4^{2-}) alırken, toprak fosforunun %95-99'u çökelmiş, hareketsizleştirilmiş ve çözünmeyen formlarda bulunduğu için bitkiler tarafından kullanılamaz (Hazarika et al. 2021; Ehinmitan et al. 2024; Khoso et al. 2024; Pallucchini et al. 2024). Endofitler, organik asitlerin salgılanması, şelasyon iyon değişimi gibi birçok yolla çözünmeyen fosfatı çözdürebilir, bitkiler için fosfor bulunabilirliğini artırır. Ayrıca, endofitler fosfataz, fitaz ve C—P liyaz gibi P-çözücü enzimler salgılayabilir. Sitrik, malonik, fumarik, tartarik, glukonik, asetik veya glikolik asit gibi organik asitlerin salgılanması, P çözündürmesinde yer alan ana mekanizma olarak kabul edilir. *Rhizobium*, *Bacillus* ve *Pseudomonas* gibi fosfat çözücü bakteriler, çözünmeyen fosforu bitkiler için erişilebilir hale getirir. Sideroforlar, bitki için temel olarak gerekli olan Fe^{3+} ve Fe^{2+} gibi metal iyonlarını bağlamaktadır. Toprakta bulunan demirin eksikliği durumunda mikroorganizmalar tarafından üretilmekte ve salgılanmaktadır. Bu moleküller, toprakta çözünmeyen demiri bitkilere iletmenin yanı

sıra, rizosferdeki istenmeyen metal iyonlarını temizleyerek bitki büyümesine zarar verebilecek toksinleri azaltmaktadır. Endofitik bakteriler, demir kısıtlaması altında siderofor üretir ve bu üretim, bitkileri fitopatojenlere karşı koruyarak büyümelerini destekler. *Bacillus spp*, *Methylobacterium mezophilicum* gibi bakteriler, siderofor salgılayarak bitkilerin büyümesini desteklemektedir (Lacava et al. 2008; Eid et al. 2021; de Almeida et al. 2024; Nagah et al. 2024).

Endofitler, bitki büyümesini teşvik etmenin yanı sıra, kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik streslere karşı toleransı artırır. Bitki ile doğrudan etkileşerek stres toleransını artırır ve bu özellikleriyle geleneksel ıslah ve genetik mühendisliği yöntemlerine alternatif sunar.

1.5.3.Bitkide Endofitik Bakteriyel Aracılı Kuraklık Toleransı

Bitki büyümesini teşvik edici aktivitelerine ek olarak, endofitler ayrıca biyotik ve abiyotik streslere karşı toleransı geliştirme yeteneğine de sahiptir. Kuraklık stresinin bitki büyümesi ve verimi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmek için kuraklığa dayanıklı çeşitler geliştirmek amacıyla çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Kuraklığa dayanıklı ve daha yüksek verimli bitkiler geliştirmek için geleneksel ıslah ve genetik mühendisliği yaklaşımları kullanılmıştır. Ancak, geleneksel ıslah yoğun emek ve zaman gerektirir, bazen de diğer yararlı özelliklerin kaybına sebep olur. Öte yandan, bitki genetik mühendisliği teorik olarak daha hızlıdır, ancak ticarileştirilinceye kadar transgenik ürün geliştirmek için zaman ve emek zorluklarını da beraberinde getirir. Tüketicilerin genetiği değiştirilmiş bitki ürünlerine verdiği tepkiler ülkeler arasında farklılık göstermesinden dolayı transgenik bir ürünün pazardaki başarı garantisi yoktur. Bitki-mikroorganizma etkileşimleri kuraklık stresi de dahil olmak üzere abiyotik streslere karşı bitki tepkilerini etkileyebilir. Endofitik bakteriler, rizosferik bakteri topluluğuna kıyasla bitkilerle doğrudan ilişki içindedir (Kim et al. 2023; Nong et al. 2023).

Günümüzde, bitki-endofitik bakteri etkileşimleri, artan ürün üretimindeki etkili rolü ve gelişmiş kuraklık toleransı sağlaması nedeniyle çok fazla ilgi görmektedir (Finkel et al. 2017; Marulanda et al. 2009). Endofitlerin bitki büyümesini teşvik etmedeki rolü iyi çalışılmış olsa da; kuraklık toleransını artırmadaki rolü son zamanlarda çok fazla ilgi

görmüştür. Bitkilerin su eksikliğine adaptasyonlarının altında yatan mekanizmayı belirlemek, kuraklığa dayanıklı çeşitlerin ve maliyet-etkin yönetim uygulamalarının geliştirilmesi için önemli bir adımdır. Kuraklık stresıyla başa çıkmak için bitkiler çeşitli morfo-fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tepkiler gösterir ve bu süreçler bitkilerde kuraklık toleransını artırmak için endofitik bakteriler tarafından değiştirilebilmektedir (Alwutayd et al. 2023; Juby et al. 2023; Dargiri et al. 2025).

Kök yapısı, bitkilerin kuraklığa karşı geliştirdiği başlıca adaptasyonlardandır. Derin ve yoğun kök sistemleri, alt toprak katmanlarından daha fazla su çekerek verimi artırırken; ince çaplı kökler, toprakla temas yüzeyini genişleterek suyun daha etkin alınmasını sağlar. Bu özellikleriyle derin ve güçlü köklü bitkiler, yüzeysel ve zayıf köklülere göre kurak koşullara daha dayanıklıdır. Ayrıca rizosferde yaşayan yararlı bakteriler de kök uzunluğunu ve sayısını artırarak bitkinin suya erişimini destekler (Dao et al. 2025; Li et al. 2025; Zhang et al. 2025).

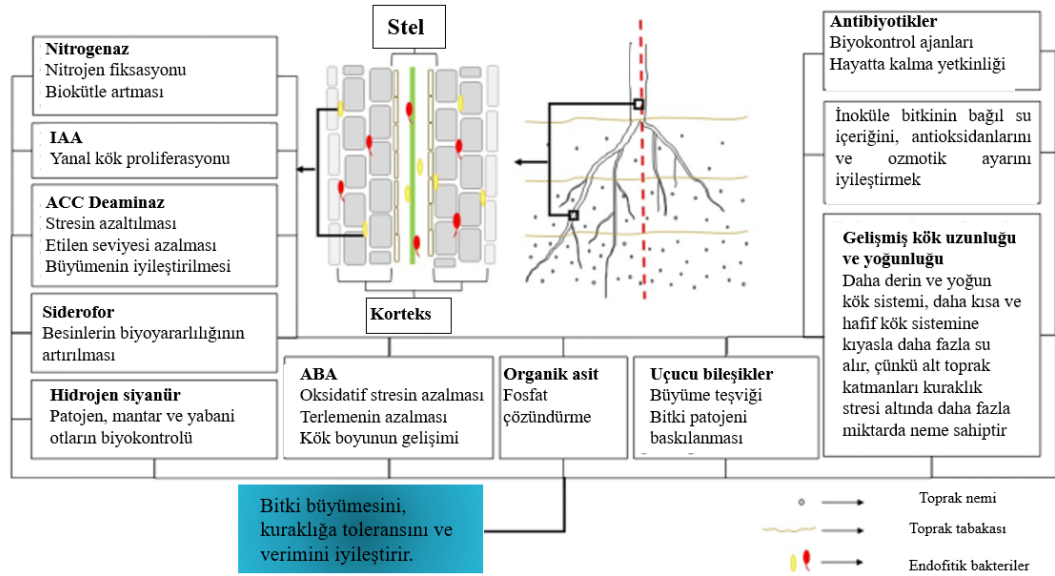
Endofitik bakteriler, bitki hormonları (IAA, ABA ve gibberellinler), amonyak, besin maddelerinin biyoyararlanımı (rizosferdeki endofitler) ve fitopatojene karşı antagonistik etki yoluyla kök uzunluğunu ve yoğunluğunu iyileştirir. Daha yüksek kök uzunluğu ve yoğunluğu, bitkilerin kuraklık stresine dayanmasını sağlayan su ve besin maddesi alımını iyileştirmektedir (Shaffique et al. 2023; Hwang et al. 2025). PGPB olarak işlev gören endofitik bakteriler kök büyümesini ve verimi artırmaktadır. PGPB endofitik bakterileri ile aşılanmış bitkiler kuraklık stresi koşulları altında sürgün büyümesini sürdürebilir ve verimi artırabilir. Endofitik bakteriler su eksikliği koşullarında bitki biyokütlesini ve verimini de artırabilmektedir. Endofitik bakterilerin kuraklık stresi altında uyumlu çözünen maddeleri, örneğin şekerleri ve prolin içeriğini artırdığı bildirilmiştir. (Ganie et al. 2022).

RWC (bağlı su içeriği), bağlı su turgoru olarak da bilinir ve gerçek su içeriğinin yaprağın maksimum su tutma kapasitesine oranıdır. Kuraklık ve ısı stresinin derecesini değerlendirmede, yapraktaki su açığını ölçmek için etkili bir kriterdir. Daha yüksek RWC, bir türün kuraklık stresine daha iyi adapte olduğunu gösterir ve bu nedenle önemli bir kuraklık toleransı stratejisi olarak kabul edilir. Endofitik bakterilerin kuraklık stresini hafifletici etkisini değerlendirmede, yaprak RWC'si yaygın bir parametredir (Ngumbi

and Kloepper 2016). Bu bağlamda, aşılaman bitkilerde RWC'yi artırarak kuraklık stresini azaltan çeşitli endofitik bakterileri araştırılmıştır. Endofitik bakterilerin, RWC'yi artırarak bitkilerin kuraklık toleransını güçlendirdiği sonuçları elde edilmiştir (Hosseini et al. 2018; Lubyanova et al. 2023).

Atmosferik O₂'nin kısmi olarak azaltılması, OH, H₂O₂, O₂⁻ ve ¹O₂ dahil olmak üzere ROS üretimine yol açar. ROS üretimi genellikle kuraklık stresıyla artar ve lipitlere, proteinlere ve diğer makromoleküllere oksidatif hasara neden olur. Ancak kuraklık stresi altında endofitik bakterilerin uygulanmasıyla bitkilerde ROS üretimi azaltılabilir (Ahmad et al. 2022; Sahu et al. 2022).

Bitki büyüme düzenleyicileri, bitki büyüme maddeleri, bitki hormonları veya fitohormonlar olarak da bilinir, bitkilerde büyüme ve gelişim süreçlerini düzenleyen doğal olarak üreten fitokimyasallardır. Bitki büyüme düzenleyicileri ilk olarak bitki büyümesindeki ve bitki içindeki normal operasyonlardaki rolleri için tanıtıldı, ancak daha sonra rolleri, bitki büyümesini, gelişimini ve verimini etkileyen dış faktörleri (biyotik ve abiyotik stresler) düzenlemek olarak da incelenmiştir. Bitkinin endofitik bakterilerle ilişkisi, bitki büyümesi ve abiyotik streslere, yani kuraklık stresine karşı direnç üzerinde faydalı bir etkiye sahiptir. Endofitik bakteriler, bitkilerde kuraklık toleransı yeteneğini iyileştiren, kuraklık toleransı ile ilgili fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler değişikliklere neden olan bitki büyüme düzenleyicileri de dahil olmak üzere çok düşük konsantrasyonlarda çeşitli maddeler salgılar (Şekil 1.9) (Gao et al. 2023; Liu et al. 2025).



Şekil 1.9. Endofitik bakterilerin salgıladığı maddeler (Ullah et al. 2019).

Oksinler, özellikle IAA, bitki büyüme ve gelişiminde rol oynayan önemli fitohormonlardır. IAA; çimlenme, hücre bölünmesi, kök gelişimi, fotosentez ve stres yanıtlarını düzenler. Organogenez, tropik tepkiler ve gen düzenlemesi gibi gelişimsel süreçlerde etkindir. IAA üretimi genellikle bitkiyle ilişkili mikroorganizmalarca gerçekleştirilir. *Microbacterium*, *Rhizobium*, *Mycobacterium* ve *Sphingomonas* en aktif üretici cinsler arasında yer alır. Oksinlerin kuraklık stresine karşı toleransı artırdığı birçok çalışmada ortaya konmuştur. (Jung et al 2015; Mishra et al. 2022). Endofitik bakteriler, IAA dahil olmak üzere çeşitli fitohormonları sentezleyebilir. Bu bakteriler IAA düzeylerini doğrudan üretim yoluyla veya taşıyım mekanizmalarına müdahale ederek etkileyebilir. IAA, rizosferik bakterilerin %80'inden fazlası tarafından üretilir. IAA üreten endofitlerle aşılanan bitkilerde yan kök ve kök tüyü sayısı artar; bu da toprakla temas yüzeyini genişleterek su ve mineral alımını artırır. IAA eksikliği olan mutantlar da oksinlerin bu süreçlerdeki rolünü doğrulamaktadır (Donoso et al. 2017; Khiannngam et al. 2023).

Önemli bir bitki büyüme düzenleyici madde olan ABA, büyüme, gelişme ve üreme dahil olmak üzere çok sayıda kritik morfo-fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçte yer alır. Bitki büyümesini teşvik edici özelliklerine ek olarak, ABA ayrıca bitkinin çeşitli abiyotik strese (aşırı sıcaklık, kuraklık ve tuzluluk) verdiği tepkilerde ve adaptasyonda da rol oynar. Çok sayıda çalışma, kuraklık stresine maruz kaldığında kuraklıktan sorumlu sinyal yollarını tetiklemede ardından morfo-fizyolojik ve

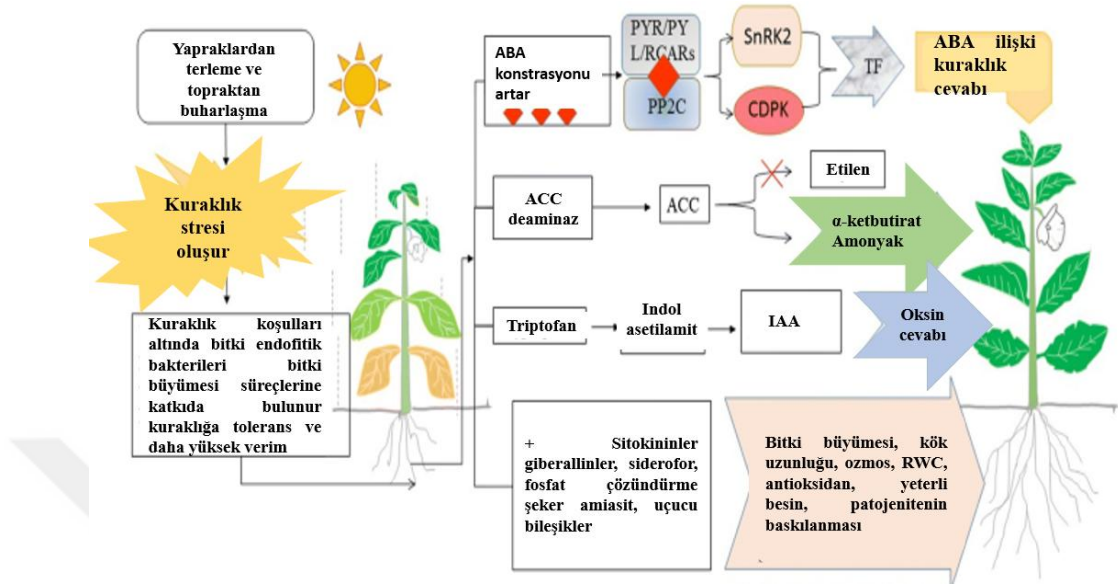
1. GİRİŞ

biyokimyasal tepkileri buna göre düzenlemede ABA'nın rolünü savunmaktadır. ABA içeriği normal koşullar altında genellikle düşüktür, PP2C tarafından SnRK2 proteininin aktivitesinin inhibisyonuna yol açar, bu da defosforilasyona yol açar. Ancak kuraklık stresi bitkilerdeki ABA içeriğini artırır ve bu da ABA'nın PYR/PYL/RCAR'lara bağlanmasına yol açar; bu da PP2C'leri bağlar ve inaktif hale getirir. SnRK2'ler PP2C'lerden ayrıldıklarında otomatik olarak aktive olurlar. SnRK2'lerin aktivasyonu, akış aşağısı hedeflerinin fosforilasyonuna yol açarak ABA kaynaklı morfo-fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler tepkileri tetikler. Tepkisel gen ifadesi, ABA kaynaklı ve aracılı sinyalleme tarafından kontrol edilir ve kuraklık toleransı tepkilerinin daha iyi ortaya çıkmasına yol açar. Kuraklık stresi koşulları altında ABA, kök uzunluğunu ve yoğunluğunu artırarak daha derine inerek ve daha fazla nem içeriğiyle temas ederek optimum su ve besin edinimini geliştirmek için kök sistemini iyileştirir. Üstelik ABA, toprak neminden daha iyi yararlanmak ve hücre turgor potansiyelini korumak için bitki kök ve sürgününün hidrolik iletkenliklerini de korur, bu da antioksidan aktivitelerin yukarı düzenlenmesi ve RWC'yi daha da koruyan uyumlu ozmolitlerin birikmesi yoluyla daha iyi kuraklık toleransına yol açar. ABA uygulamasının antioksidan enzim aktivitelerini artırdığını, bunun da oksidatif stres kaynaklı hasarı azalttığını ve sonrasında kuraklık toleransını iyileştirdiğini çalışmıştır (Chaves et al. 2003; Guajardo et al. 2016; Sah et al. 2016). Genellikle, ABA yüksek bitkilerde bulunur; ancak, son zamanlarda algler, mantarlar ve endofitik bakteriler de dahil olmak üzere bakterilerin de ABA ürettiği ve ilişkili organizmanın çeşitli morfo-fizyolojik değişimlerini değiştirebildiği bulunmuştur. Endofitik bakterilerin ABA üretme potansiyeli hakkında az bilgi mevcuttur; ancak endofitik bakteriler tarafından üretilen ABA'yı gösteren çalışmalar mevcuttur (Takezawa et al. 2011).

Etilen hormonu; meyve olgunlaşması, senesans ve absisyon gibi birçok bitki büyüme parametresinden sorumludur. Kuraklık stresi de dahil olmak üzere çeşitli çevresel stresler, etilen üretiminin artmasına yol açar ve bitki büyümesinin engelleyici seviyelerine ulaşabilir. Bitkilerdeki etilen seviyelerini düşürmek için ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat) deaminaz üreten bakteriler, kuraklık gibi stresli koşullar altında, büyümeyi sürdürmek için önemli bir fizyolojik strateji olarak değerlendirilir. ACC deaminaz üreten bakteriler, etilenin doğrudan öncülünü, yani bitkilerdeki ACC'yi

1. GİRİŞ

parçalayarak amonyak ve α -ketobutirat üretir, bu da bitkilerde etilen seviyesinin azalmasına ve büyümenin artmasına neden olur (Ravanbakhsh et al. 2018) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Kuraklık stresine karşı endotif bakterilerin bitkisel yanıtları (Ullah et al. 2019).

Pseudomonas sp. ACC, deaminazını sentezleyen ilk bakteri olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda, endofitik bakteriler de dahil olmak üzere çok sayıda bakterinin ACC deaminazını sentezlediği bulunmuştur. ACC deaminaz üreten endofitik bakteriler etilen seviyesini düşürür ve bitkiyi abiyotik streslerden, yani kuraklık stresinden zarar görmekten korur. ACC deaminaz üreten çok sayıda rizosferik bakterinin kuraklık toleransını artırdığı bulunmuştur (Honma and Shimomura 1978; Shakir et al. 2012; Gamalero and Glick 2015; Moon and Ali 2022). Fizyolojik ve moleküler çalışmalar, fitohormonal yolların rolünü ayrı ayrı belirlemiştir; ancak moleküler biyoloji alanındaki son gelişmeler, bu hormonal yolların kuraklık stresıyla başa çıkmak için genellikle ayrı yollar yerine etkileşimli bir yanıt ağı aracılığıyla hareket ettiğini ortaya koymuştur (Bielach et al. 2017).

2.KAYNAK ÖZETLERİ

Al-Garni et al. (2019) 25 potansiyel PGPB, *alfalfa* kök sapından izole edilmiş ve IAA, ACC deaminaz sentezleme ve trikalsiyum fosfatı çözündürme yetenekleri açısından değerlendirilmiştir. Bu tarama sonucunda, iki suş öne çıkmış ve fenotipik, biyokimyasal özellikleri ile 16S rRNA gen dizilimi analizine dayanarak *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (KB-10) ve *Pseudomonas putida* (KB-25) olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, kışnişteki tuzluluk stresini hafifletmede KB-10 ve KB-25 uygulamasının, tek başına ve Si gübresiyle birlikte, etkinliğini değerlendirmek için bir saksı deneyi yürütülmüştür. Sonuçlar, PGPB suşları ve Si ile yapılan uygulamanın, bağıl su içeriğini, fotosentetik pigment konsantrasyonlarını, peroksidaz aktivitesini, toplam biyokütleyi, tuz tolerans indeksini önemli ölçüde artırdığı ve tuz kaynaklı toplam fenolik içerikleri azalttığı gösterilmiştir.

Eke et al. (2019) kaktüs bitkilerinden izole ettikleri 191 endofitik bakteri suşunu karakterize etmiş ve bu suşları domates bitkisinde kuraklık toleransını artırma ve bitki büyümesini teşvik etme potansiyelleri açısından değerlendirmiştir. Çalışmada, *Bacillus* (58), *Lysinibacillus* (36), *Enterobacter* (29), *Stenotrophomonas* (18), *Lelliottia* (12) ve *Pseudomonas* (12) en çok temsil edilen cinsler olarak teşhis edilmiştir. *Bacillus xiamenensis* ilk kez bitki endofiti olarak tanımlanmıştır. İzole edilen endofitler domatesta çimlenmeyi ve büyümeyi tetiklemiştir; kurak olmayan ve kuraklık kaynaklı koşullar altında sırasıyla %118 ve %52 daha fazla kök biyokütlesi ile gösterilmiştir. Kaktüs kökenli endofitik bakterilerle aşılanan domates bitkileri, nem stresine bağlı fizyolojik baskılardan korunma potansiyeli göstermiştir. Bu durum; değişen oksidatif denge, stoma açıklığı ve PSII (Fotosistem II) işleyişinde iyileşme, yaprak içi sıcaklığında azalma ve bağıl su içeriğinde artış gibi fizyolojik parametrelerde gözlenen olumlu değişimlerle desteklenmiştir. GPX ve CAT gibi oksidatif stres enzimlerinin aktivitesi de domatesin endofit destekli stresten etkilenmediğini göstermiştir. 20 günlük kuraklık uygulamasında domates fidelerine endofit uygulananlar %86,9 oranında iyileşme göstermiştir. Kaktüs endofitik bakteri suşu *Bacillus amyloliquefaciens* CBa_RA37, Asya ve Afrika kıtalarının kurak bölgelerinde kuraklığı azaltmak için düşük maliyetli, etkili ve çevre dostu biyo-aşılama teknolojisi için umut vaatmeye başlamıştır.

Ahmed et al. (2020) tuzlu koşullar altında mung fasulyesinin fizyolojisini, büyümesini ve verimini iyileştirmek için çevre dostu bir yaklaşım olarak PGPR aşılması ve Si yaprak uygulamasının etkilerini araştırmıştır. Arabistan'daki doğal tuzlu topraktan 18 ümit verici PGPR izole edilmiş ve bunları bitki büyümesini teşvik edici aktiviteler açısından taranmıştır. Tarama denemesinden iki etkili suş seçilmiş ve sırasıyla matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon-uçuş süresi kütle spektrometrisi ve 16S rRNA gen dizileme teknikleri kullanılarak *Enterobacter cloacae* ve *Bacillus drentensis* olarak tanımlanmıştır. Daha sonra, bölünmüş parsel düzenlemesi ile rastgele tam blok tasarımı kullanılarak 2 yıllık bir mung fasulyesi tarla denemesinde, iki PGPR suşu ve iki Si seviyesini (1 ve 2 kg ha⁻¹), üç farklı tuzlu sulama koşulu altında (3.12, 5.46 ve 7.81 dS m⁻¹) kontrol uygulamalarıyla karşılaştırarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, tuz stresinin stoma iletkenliğini, terleme hızını, RWC, toplam klorofil içeriğini, klorofil a'yı, klorofil b'yi, karotenoid içeriğini, bitki boyunu, yaprak alanını, kuru biyokütleyi, tohum verimini ve tuz tolerans indeksini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. PGPR suşları ve Si seviyeleri belirtilen tüm parametreleri bağımsız olarak iyileştirmiştir.

Alkahtani et al. (2020) Güney Sina'nın (Mısır) kurak bölgesinde kendiliğinden yetişen iki yerli tıbbi bitkisinden (*Fagonia mollis* Delile ve *Achillea fragrantissima* (Forssk) Sch. Bip.) bakteriyel endofitlerin izolasyonu ve tanımlanması ile bitki büyümesini teşvik edici (PGPB) özelliklerinin karakterizasyonuna odaklanmıştır. On üç bakteriyel endofit, her iki bitki türünün yapraklarından izole edilmiş, moleküler ve biyokimyasal yaklaşımların yanı sıra sera denemeleri kullanılarak bitki büyümesini teşvik edici yetenekleri açısından karakterize edilmiştir. Seçilen endofitik bakteri suşları, sera koşulları altında PGPB yeteneklerini daha fazla değerlendirmek için mısır bitkilerine (*Zea mays* L.) uygulanmıştır. İzole edilen bakteri suşlarının değişken bitki büyümesini teşvik edici aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir. Bu aktiviteler arasında, izole edilen bakteriyel endofitler, 7.6 ± 0.3 ila 9.6 ± 0.3 mm arasında değişen net zonlarla fosfat çözünürleştirme etkinliği göstermiştir. Ayrıca, elde edilen bakteriyel endofitler indol verimliliğini arttırmıştır.

Jayakumar et al. (2020) *Curcuma longa* (zerdaçal) rizomundan izole edilen endofitik Ceb1 bakterisini 16S rRNA dizilimi ile *Staphylococcus* sp. türü olarak tanımlamıştır. Ayrıca, Ceb1'in kuraklık stresini tolere etme yeteneğine sahip olduğu

gözlenmiştir. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler taranırken özelliklerine göre, Ceb1'in hem kuraklık stresli hem de normal koşullar altında HPLC kullanılarak IAA üretiminin pozitif olduğu bulunmuştur. *Vigna unguiculata* ile Ceb1 priminginin bitkinin büyüme parametrelerini arttırdığı gözlemlenmiştir. Analiz sonuçları, ICP-MS yöntemiyle değerlendirildiğinde, Ceb1 ile muamele edilen bitkilerin hem makro hem de mikro besin elementlerinin düzeylerinde anlamlı modülasyonlar gösterdiği belirlenmiştir. Kuraklık stresi indüksiyonu üzerine *Vigna unguiculata*'da, Ceb1'in sinerjik bitki büyümesini teşvik edici etki sağladığı bulunmuştur. Değişen agroklimatik koşullar altında, silikat kaynaklarının bitki stresini hafifletici etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

Wang et al. (2020) *Rehmannia glutinosa* Libosch'tan elde edilen endofitik bakterilerin büyümeyi destekleme potansiyelini incelemek amacıyla, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Lysinibacillus*, *Brevibacterium*, *Halomonas*, *Kocuria* ve *Terribacillus* dahil olmak üzere 7 cinse ait toplam 25 farklı bakteri 16S rRNA gen dizilimi ile tanımlanmıştır. Bu çalışmada, on üç bakteri suşunun inorganik fosfatı çözdüğü ve *Kocuria rosea* (EH15) izolatının en yüksek fosfor çözme aktivitesine (3.70 µg/mL) sahip olduğu bulunmuştur. On iki izolat azot fiksasyon yetenekleri açısından pozitif olarak bildirilmiştir. Yirmi iki suş L-triptofan varlığında IAA üretimi yapmış ve yirmi iki izolatın on biri L-triptofan yokluğunda IAA sentezlemiştir. *K. rosea* (EH15) suşu, %0,2 L-triptofan içeren ve L-triptofan içermeyen LB (Luria Bertoni) sırasıyla en yüksek IAA miktarını (15,36 ve 7,98 mg/L) üretebilmiştir. *B. amyloliquefacies* EH10 (0.26) ve *Brevibacterium frigoritolerans* EH13 (0.32) yüksek siderofor üretim özellikleri gösterirken on izolatın da siderofor üretim yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir. *Brassica napus* L.'nin büyüme parametrelerini değerlendirmek için beş endojen bakteri seçilmiş ve tüm izolatlar kontrol bitkilerine kıyasla fide boyu, kök uzunluğu, taze ağırlık ve kuru ağırlıkta önemli ölçüde daha fazla artış sergilemiştir.

Ahmad et al. (2021) maş fasulyesi bitkilerinin köklerini kolonize eden kuraklığa dayanıklı bir bakteri olan *Enterobacter* sp./ *Leclercia adekarboxilata* PAB19 kullanarak yeni ve sürdürülebilir çözüme odaklanmıştır. Bir dizi *in vitro* ve *in situ* (sahada) deney gerçekleştirilerek, PAB19 bakterisinin kuraklık stresini hafifletmek için büyük bir potansiyele sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Bakteriyel aşılama olmaksızın PEG-6000 ile oluşturulan kuraklık stresi tarafından baskılanan bakteriyel aktivite, tarımsal açıdan

önemli birkaç parametreyi artırmıştır. Sonuç olarak, PAB19 suşu, su eksikliği koşullarında maş fasulyesinin biyolojik özelliklerini iyileştirerek kuraklık stresini hafifletmek için kullanılabilmiştir.

Akthar et al. (2021) kuraklığa dayanıklı ve bitki büyümesini teşvik eden rizobakteri suşlarını, Pakistan'ın kurak bölgesinde yetişen buğday bitkilerinin rizosferik toprağından izole etmişlerdir. İzole edilen 30 suştan, kuraklığa dayanıklılıkları, yüksek fitohormonlar IAA, ABA, sitokinin, prolin ve şeker üretim yeteneklerine göre üç rizobakteriyel suş seçilmiştir. Bu suşlar, 16S rRNA dizilimi ile *Bacillus* sp., *Azospirillum lipoferum* ve *Azospirillum brasilense* olarak tanımlanmış ve erişim numaraları (sırasıyla MT482404, MT742664 ve MT 742666) elde edilmiştir. Bu suşların tek başlarına veya kombinasyon halinde aşılınması, kuraklık stresi koşulları altında buğday tohumlarının çimlenme özelliklerini iyileştirmiştir. Bununla birlikte, üç bakteri suşunun kombinasyonu en iyi sonuçları vermiştir. SiO₂ NP'leri silikon dioksitten hazırlanmış ve taramalı elektron mikroskobu (SEM), EDX ve UV-görünür spektrum ile karakterize edilmiştir. SiO₂ NP'leri kuraklık stresi altındaki buğday tohumlarında da test edilmiş ve SiO₂ NP'lerinin (150 mg/L) buğday fidelerinde belirgin kuraklık iyileştirici potansiyeli yarattığı gözlemlenmiştir. Saksı deneyinde, SiO₂ NP'leri ve PGPR'nin birlikte uygulanması sinerjik bir rol oynamış, buğdayın büyümesini ve verimini iyileştirmiştir. SiO₂ NP'leri ve bakteri kombinasyonu arasındaki etkileşim, biyokütleyi (taze ve kuru ağırlık) ve klorofil-a, b içeriğini sırasıyla tedavi edilmemiş ancak kuraklığa maruz kalmış bitkilere kıyasla %138,78, %65,70, %128,57 ve %283,33 oranında iyileştirmiştir. Ayrıca buğdayın göreceli su içeriğini (%71,66), gaz değişim özelliklerini, artan besin alımını ve ozmolit üretimini iyileştirmiştir. Antioksidan enzimlerin yukarı düzenlenmesi; SOD (%60,49), POX (%55,99) ve CAX (%81,69) da gözlemlenmiştir.

Alharbi et al. (2022) 2019/2020 ve 2020/2021 yıllarında arpanın (*Hordum vulgare* L.) büyümesi, fizyolojisi ve üretkenliği ile toprak özellikleri ve besin alımı üzerindeki tuzlu su ile sulamanın zararlı etkilerini azaltmak için bitki büyümesini teşvik eden rizobakterilerin (950 g ha⁻¹'de PGPR; *Azotobacter chroococcum* SARS 10 ve *Pseudomonas koreensis* MG209738) ve SiNP'ler tekil ve kombine uygulamasını kullanarak tuzdan etkilenen toprak için sinerjik bir iyileştirme stratejisi kullanmıştır. Saha denemeleri, PGPR ve SiNP'lerin kombine uygulamasının, esas olarak

toprak değıştirilebilir sodyum yüzdesini azaltarak, toprak fizikokimyasal özelliklerini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir. Ek olarak, kontrolle karşılaştırıldığında her iki yetiştirme mevsiminde de mikrobiyolojik sayıları ve toprak enzim aktivitesini (yani üreaz ve dehidrogenaz) önemli ölçüde artırmıştır. PGPR ve SiNP'lerin kombine uygulaması, PGPR veya SiNP'lerin tek uygulamasına kıyasla, tuzdan etkilenen toprakta yetiştirilen arpa bitkileri üzerindeki tuzlu suyun zararlı etkilerini hafifletmiştir. Bu belirgin iyileşme, arpa bitkilerinin fizyolojik özelliklerini SPAD, RWC, stoma iletkenliği ve K/Na oranı), enzim aktivitesini (SOD, CAT ve POX) ve verimi ve verimle ilişkili özellikleri ve besin maddesi alımını (N, P ve K) iyileştiren PGPR ve SiNP'lerin birlikte uygulanmasından kaynaklanmıştır. Na⁺ içeriği, H₂O₂ içeriği, MDA, elektrolit sızıntısı ve prolin içeriği PGPR + SiNP'lerin uygulanmasıyla azalmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuç, PGPR ve SiNP'lerin birlikte uygulanmasının, tuzlu koşullar altındaki bitkilerde tuz stresinin toprak üzerindeki olumsuz etkilerini etkin şekilde azaltarak toprak sağlığı ve verimde anlamlı iyileşmeler sağladığını göstermektedir.

Draou et al. (2022) kaktüs köklerinden izole edilen endofitik bakterilerin kuraklık koşulları altında buğday vb. bitkiler için yararlı bir potansiyele sahip olup olmadığını araştırmıştır. Kaktüsün köklerinden iki endofitik bakteri izolatu izole edilmiş ve N içermeyen büyüme ve oksin üretimi gibi bitki büyümesini teşvik edici özellikleri açısından taranmıştır. Bu bakteriler, *in vitro* koşullar altında makarnalık buğdayın büyümesini teşvik etme potansiyellerini göstermiş ve 16S rRNA geninin dizilenmesi ve filogenetik analizin ardından *P. putida* ve *P. brassicacearum* olarak tanımlanmış ve kontrole kıyasla tohum iriliği gibi büyüme parametrelerinde önemli ölçüde iyileşme sağlamıştır. *P. putida* ve *P. brassicacearum*'un filizlenmiş buğday tohumlarıyla 5 günlük temasından sonra, sırasıyla %39,88 ve %62,14'lük bir kök büyüme oranı kaydedilmiştir. Buğday köklerinin büyümesi üzerindeki aynı etki, bu bakterilerin uçucu maddelerinin ayrı ayrı biriktirilmesiyle (sırasıyla %53,30 ve %24,18) meydana gelmiştir. Kuraklık stresinin belirtileri, *P. putida* ve *P. brassicacearum* bakterileri ile aşıl原因an fidelerde gözle görülür şekilde azalmış, bu sonuç kök parametrelerinin sırasıyla uzunluk (%260,83 ve %179,60), yüzey (%21,98 ve %60,17) ve kapsam (%59,46 ve %62,67) büyüme oranıyla desteklenmiştir. Bu çalışma, tarla bitkilerinin büyümesini iyileştirmek için kaktüsler gibi az kullanılan kuraklığa dayanıklı türlerin endofit bakterilerinin karakterizasyonu ve

seçimi için farklı bir bakış açısı sunmuştur. Bu sonuçlar, *Pseudomonas sp.*'nin buğdayda etkili bir biyogübre olarak kullanılabilirliğini göstermiştir.

Ferrusquía-Jiménez et al. (2022) SiO₂ NP'ler *Bacillus cereus* (Bc-A) hayatta kalması, antioksidan enzimatik aktivitesi, fosfat çözündürme kapasitesi ve giberellin üretimi üzerindeki etkisini araştırmıştır. Ayrıca, SiO₂ NP'ler ve Bc - A'nın birlikte uygulanmasının acı biber bitkilerinin tohum çimlenmesi, fizyolojik özellikleri ve antioksidan enzimatik aktivitesi üzerindeki etkisi sera koşullarında araştırılmıştır. Sonuçlar, 100 ppm'deki SiO₂ NP'lerin, fosfat çözündürme kapasitesini ve GA7 üretimini artırarak Bc -A'nın PGPB olarak rolünü güçlendirdiğini göstermiştir. Ayrıca, Bc -A CAT ve SOD aktiviteleri SiO₂ NP'leri 100 ppm uygulamasıyla artmış olup bu da SiO₂ NP'lerinin savunma ile ilgili tepkileri indüklediğini göstermiştir. SiO₂ NP'leri 100 ppm ve Bc -A'nın birlikte uygulanması acı biber büyümesini iyileştirmiştir. Tohum çimlenme yüzdesinde, bitki boyunda, yaprak sayısında, meyve sayısında ve veriminde artış olmuştur. Ayrıca acı biber bitkilerinde CAT ve PAL aktivitelerinde artış olmuştur, bu da bakteri-NP uygulamasının bitki antioksidan cevabını indüklediğini göstermiştir.

Govindasamy et al. (2022) kaktüsten (*Opuntia ficus-indica*) iki farklı kaktüs genetik örneğinin köklerinden morfolojik olarak farklı 179 endofitik aktinobakteri izole edilmiştir. İzolatlar, N içermeyen ortamda büyüme, P çözünürlüğü, siderofor üretimi, ACC deaminaz aktivitesi ve oksin üretimi olmak üzere bitki büyüme teşvik özellikleri açısından taranmış, *in vitro* koşullar altında bitki büyüme teşviki potansiyeli göstermiştir. Çoklu PGPB özelliklerine göre seçilmiş olan izolatlar 16S rRNA gen dizilimi ve filogenetik analizi sonuçlarına göre *Streptomyces sp.* olarak tanımlanmıştır. Seçilen endofitik *Streptomyces'in* bitki büyüme teşvik potansiyeli buğday fidelerinde incelenmiştir. Seçilen tüm bu izolatlar, inoküle edilmiş kontrole kıyasla fide uzunluğu ve kökçük sayısı gibi büyüme parametrelerini önemli ölçüde iyileştirmiştir. Kaktüs türlerinin köklerinden izole edilen bu endofitik aktinobakteriler potansiyel PGPB özellikleri göstermiştir. Çalışma abiyotik stres koşulları altında tarla bitkilerinin bitki büyümesinin iyileştirilmesi için potansiyel çapraz uyumluluğa sahip kaktüs gibi yeterince yararlanılmayan, kuraklığa dayanıklı türlerden endofitik aktinobakterilerin karakterizasyonu ve seçimi için temel oluşturmuştur.

Mehrasa et al. (2022) çalışmalarında dört tekrarlı tam blok tasarımına dayalı bölünmüş faktöriyel bir düzenleme olarak yapmıştır. Ana parsel olarak kuraklık stresi, (stres ve kontrol) ve 2 yıl boyunca (2018 ve 2019) alt parseller olarak salisilik asit (0, 1 ve 2 mM, altı yapraklı aşamada yapraktan uygulanan) ve fosfat biyogübresinden (kontrol, *Bacillus subtilis* ve *P. putida*) oluşmaktadır. Büyüme parametreleri kuraklık stresi altında azalmıştır. Ayrıca, RWC, fotosentetik pigmentler, ozmotik bileşikler, enzimatik reaksiyonlar ve besin alımı kuraklık, endofitik bakteriler (*B. subtilis*, *P. putida*) ve SA(salisilik asit) arasındaki etkileşimden önemli ölçüde etkilenmiştir. Ayrıca, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofilin yanı sıra çözünür protein, fosfat biyogübre ve SA birlikte uygulanmasıyla stres altında büyük ölçüde artmıştır. Buna karşılık, CAT SOD aktivitesi, çinko ve demir emilimi sadece fosfat biyogübresinden etkilenmiştir. Ayrıca, salisilik asitin tek başına uygulanması RWC, prolin, azot, ham protein, fosfor ve manganez içeriğini artırmıştır. Bu sonuçlar, SA ve PB'nin eş zamanlı uygulamasının fotosentetik pigmentleri ve çözünür protein birikimini artırarak fasulye bitkilerinin kuraklık stresine toleransını geliştirdiğini kanıtlamıştır.

Kuramshina et al. (2023) *B. subtilis* bakterisinin endofitik suşları ile aşılınmış *Triticum aestivum* L., *Bromopsis inermis* L., *Pisum sativum* L. ve *Z. mays* L. bitkileri üzerinde kuraklığın etkileri incelenmiştir. Tohumların bu bakterilerle ekim öncesi muamelesinin, bitkilerin su açığına karşı direncini artırdığı, büyümelerini teşvik ettiği ve oksidatif stresi baskıladığı bulunmuştur. Test edilen suşların antistres etkisine neden olma ve antioksidan sistemi aktive etme yeteneklerine dayanarak, bunlarla bitki muamelelerinin kuraklık koşulları altında tarımsal ürünlerin yetiştirilmesini destekleyebileceği sonucuna varılmıştır.

Zou et al. (2024) SiO₂ NP'ler, ZnO NP'ler ve *Bacillus megaterium* arasındaki etkileşimler, bunların güllerin büyümesi ve rizosfer mikrobiyal toplulukları üzerindeki potansiyel etkilerini araştırmıştır. 10 ppm ZnO NP ve 1 ppm SiO₂ NP konsantrasyonlarında *B. megaterium* ile uygun bir birliktelik gözlemlenmiştir. Güllerde morfolojik büyüme, fotosentetik pigmentler, çözünür şekerler, çözünür proteinler, flavonoidler ve toprak enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için incelenmiştir. Ek olarak, rizosfer mikrobiyal topluluklarındaki değişiklikleri analiz etmek için 16S rRNA yüksek verimli dizileme kullanılmıştır. Farklı NP uygulamaları ve *B.*

megaterium güllerde bitki boyunu, gövde kalınlığını ve kök canlılığını desteklemiştir. SiO₂ NP'lerin, ZnO NP'lerin ve *B. megaterium*'un düşük konsantrasyonlarda uygulanmasının, bitki boyunu, gövde kalınlığını, biyokütleyi ve kök canlılığını artırarak gül büyümesini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Fotosentetik pigmentler, toprak enzim aktivitesi ve mikrobiyal topluluk kompozisyonu üzerindeki etki sınırlı olsa da toprak mikroorganizmaları üzerinde olumsuz etkilerin olmaması bu işlemlerin güvenliğini göstermiştir.

De Moreas et al. (2024) SiNP'lerle ilişkili PGPB'nin bahiagrass (*Paspalum notatum*) fidelerinin büyümesi üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamışlardır. PGPB'ler, Brezilya'nın tropikal yüksek rakımlı bölgesinde yetiştirilen *Paspalum türlerinin* rizosferik topraklarından ve yapraklarından izole edilmiş ve azot fiksasyon, fosfatı çözme ve IAA sentezleme yeteneklerine göre seçilmiştir. 16S rRNA dizilemesi ile *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter asburiae* ve *Serratia marcescens* olarak tanımlanmıştır. Küresel SiNP'ler (çapı 85 nm) silikon öncüsü tetraetil ortosilikatın hidrolizi ile sentezlenmiş, kızılötesi spektroskopisi ve SEM ile karakterize edilmiş ve %5 (0,05 mg/mL) ve %10 (0,1 mg/mL) konsantrasyonlarında uygulanmıştır. Dezenfekte edilmiş *P. notatum* tohumları PGPB, SiNP'ler ve PGPB + SiNP'ler ile muamele edilmiş ve turba, kum ve perlit içeren macenta kutularda yetiştirilmiştir. Fideler çimlenme yüzdesi, kök uzunluğu, sürgün uzunluğu, kök kuru ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı açısından değerlendirilmiştir. Aynı muamelelere tabi tutulan dezenfekte edilmiş tohumlar ayrıca %0,7 agar içeren Petri kaplarında yetiştirilmiştir. Petri kaplarındaki fidelerin kökleri diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB) ile boyanmış ve bakteriyel kolonizasyonu doğrulamak için ışık mikroskobu kullanılarak görüntülenmiştir. SiNP'siz üç suş *P. notatum* fidelerinin büyümesini desteklemiştir. *S. marcescens* uygulaması en büyük sürgün uzunluğunu sunmuş ve PGPB'li nanosilika'nın her iki konsantrasyonu da kök uzunluklarını iyileştirmiş veya korumuştur. %10 SiNP'li *S. marcescens* ve *E. asburiae* uygulamaları %100 tohum çimlenmesi göstermiştir. Sadece *S. marcescens* ve *E. asburiae* ile %10 SiNP aşılınmış fideler en yüksek sürgün kuru ağırlığını göstermiş ve tüm uygulamalar kontrol ile karşılaştırıldığında kök kuru ağırlığını artırmıştır. *S. marcescens* ve *A. faecalis* ile aşılınmış %10 SiNP konsantrasyonu *P. notatum* fidelerinin büyümesini olumlu yönde etkilemiştir.

Kukreti et al. (2024) çalışmalarında iki bakteri izolatının PGPR özelliklerini ve bunların büyüme örüntüleri ve yapısal modifikasyonlarına dayalı olarak nanosilikon dioksit ile etkileşimlerini analiz etmeyi amaçlamıştır. Her iki bakteri izolatı da sitrat ve çözünmüş çinko kullanmış ve bitki büyümesini teşvik etmede rol oynayan amilaz, selüloz ve ekzopolisakkaritler üretmiştir. Bakteri kültürlerinden oluşan bir konsorsiyum, bireysel bakteri izolatlarına kıyasla daha iyi Zn çözünmesi göstermiştir. Her iki bakteride de *Talaromyces* sp.'ye karşı *in vitro* antifungal aktivite gözlenmiştir. SiO₂'nin her iki bakteri izolatının büyümesi ve koloni oluşturan birim (CFU) sayısı üzerinde olumlu bir etkisi gözlemlenmiştir. SiO₂ varlığında yetiştirilen bakteri izolatlarının SEM analizi, bakteri hücrelerinin morfolojik yapısı üzerinde herhangi bir inhibitör etki göstermemiştir. Bu çalışma, SiO₂'nin PGPR üzerinde olumlu bir etki gösterdiğini ve tarım sektöründe biyoinokulantların hayatta kalmasını iyileştirmek için biyofarmülasyon yapımında daha fazla kullanılabileceğini göstermiştir.

Danish et al. (2025) önemli verim kayıplarına neden olan ajwain bitkilerinde *M. incognita*'ya karşı biyolojik kontrol etkinliğini artırmak için SiO₂ NP'leri ve *Pseudomonas fluorescens*'in potansiyelini araştırmıştır. Bu çalışmada, nematod ölüm oranı, büyüme, özellikler, fotosentetik pigmentler, besin içeriği, antioksidan enzimler ve *M. incognita* ile enfekte edilmiş ajwain bitkisinin enine kesit köklerinin histolojik incelemesi ile ilgili çeşitli parametreler üzerinde farklı konsantrasyonlarda SiO₂ NP'leri ve *P. fluorescens*'in tek başına ve eş zamanlı olarak farklı etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada kullanılan SiO₂ NP'lerinin taramalı ve SEM ile doğrulandığı üzere, 10 ila 20 nm arasında değişen boyutlarda amorf ve polidispers olduğu bulunmuştur. Sonuçlar, *in vitro* koşullar altında çeşitli SiO₂ NP konsantrasyonlarına maruz bırakıldığında *P. fluorescens*'in bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinde önemli bir gelişme olduğunu göstermiştir. Ek olarak, SiO₂ NP'leri ve *P. fluorescens*'in kombine tedavisi, ikinci aşama gençlerin ölüm oranını önemli ölçüde artırmıştır (J2). Sera koşulları, *M. incognita* ile enfekte olmuş bitkilerin SiO₂ NP'leri ve *P. fluorescens* kombinasyonu ile işlenmesinin, bitki büyümesi ve fizyolojik özellikleri, besin içeriği ve antioksidan savunma enzimlerinin aktivitesinde önemli bir artışa ($p \leq 0,05$) yol açtığını göstermiştir. SiO₂ NP'leri ve *P. fluorescens*'in bu kombine uygulaması, nematod parametrelerini ve topraktaki nematodların nihai popülasyonunu önemli ölçüde

azaltmıştır. Ayrıca, *P. fluorescens* ve SiO₂ NP'lerinin en yüksek dozuyla işlenen kökler, enine kesitlerinde daha az deformasyon sergilemiştir.

El-Beltagi et al. (2025), iyi sulanan bitkilerle (her 15 günde bir) karşılaştırıldığında sulama aralıklarını uzatmanın (her 30, 45 günde bir) etkinliğini değerlendirmiştir. Ek olarak, su eksikliği stresinin olumsuz etkilerini azaltmak için pamuk tohumları ve toprağı, *B. amyloliquifaciens*, *Funneliformis mosseae* ile ayrı ayrı ve kombinasyon halinde aşılanmıştır. 2021, 2022 yıllarında iki yaz sezonu boyunca yürütülmüştür. Sonuçlar, sulama aralıklarının uzatılmasının mikorizal kolonizasyon ve bitki boyu, yaprak alanı, bitki başına kuru ağırlık, bitki başına meyve veren dal ve koza sayısı, tiftik yüzdesi, tohum indeksi, tohum verimi, lif kalitesi dahil olmak üzere çeşitli bitki büyüme veya verimlilik parametreleri üzerinde olumsuz etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Klorofil pigmentleri (klorofil a, b ve toplam) ve yaprak bağıl su içeriği de dahil olmak üzere fizyolojik veya biyokimyasal özellikler, uzun sulama aralıklarından olumsuz etkilenmiştir. Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler ve arbusküler mikorizal mantarlarla pamuk tohumlarının biyolojik olarak hazırlanmasının, bitki boyunu, yaprak alanını, bitki kuru ağırlığını, meyve veren dal ve koza/bitki sayısını, verimi ve verim bileşenini, klorofil pigmentlerini iyileştirdiği ve antioksidan enzim aktivitesinin (CAT, POX ve PPO), yaprak toplam fenollerinin ve prolin içeriklerinin verimliliğini artırdığı bulunmuştur.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

3.1.Kullanılan Alet ve Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan cihazlar ve modeller Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan Cihazlar

CİHAZ	MARKA/MODEL
Buzdolabı	Beko
İklimlendirme Kabini	Wisd
Çalkalamalı İnkübatör	Zhicheng-Zhwy-2102c
Derin Dondurucu (-20)	Beko
Derin Dondurucu (-80)	Esco, Uus-439b
Elektroforez Tankı	Biorad
Güç Kaynağı	Biorad, PowerPac
Hassas Terazı	Shimadzu
Isıtıcı Blok	Bioer
Isıtlıcılı Manyetik Karıştırıcı	Daihan, Shr
İnkübatör	Memmert
Kondüktivmetre	ADWA
Masaüstü Ph Metre	OHAUS ST 3100F
Mikrodalga Fırın	Vestel
Mikrotom Cihazı	Leica
Nanodrop Spektrofotometre	Thermo Scientific Multiskan Go
Otoklav	Hirayama
PCR Cihazı	Sensoquest
dH ₂ O Cihazı	GFL
Santrifüj	Hettich Zentrifugen Universal 320R
Spektrofotometre	Biotek EPOCH
Steril Kabin	Esco NordicSafe™
Su Banyosu	Daihan
Terazi	Desis, NHB
Ultra dH ₂ O Cihazı	Millipore, Q-3w

Vorteks

Wisd Wisemix VM-10

CLSM

Nikon Eclips TE2000

3.2.Kullanılan Çözeltiler

Araştırmada kullanılan çözeltilerin amacı ve hazırlanma şekilleri aşağıda verilmiştir.

1. Antioksidan enzimler için homojenizasyon tamponu (pH: 7.0 0.1 M KH_2PO_4), %1 PVP, 1mM EDTA): 3,4 g KH_2PO_4 200 ml distile suda(dH_2O) çözülmüş, 1 N KOH ile pH 7.0'ye ayarlanmış ve hacim dH_2O ile 250 mL'ye tamamlanmış 0,073 g EDTA ve 2.5 g PVP eklenmiştir.
2. CAT (katalaz) aktivitesinde kullanılan tampon (pH: 7.5 103.5 mM KH_2PO_4): 1.4 g KH_2PO_4 , 80 mL dH_2O ile çözdürülmüş, pH: 7.5 olarak ayarlanmış son hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
3. CAT aktivitesi substrat çözeltisi (40 mM H_2O_2 çözeltisi): %30'luk 408 μL H_2O_2 hacmi dH_2O ile 100 mL olarak tamamlanmıştır.
4. CAT aktivitesi ölçümünde standart grafik hazırlamak için (5 mM H_2O_2 çözeltisi): %30'luk H_2O_2 'den 41 μL alınmış hacmi dH_2O ile 100 mL'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
5. POX aktivitesi tampon çözeltisi (pH: 5.5 0.1 M Na_2HPO_4): 200 mL dH_2O içerisinde 3,55 g Na_2HPO_4 çözdürülmüş ve son hacim 250 mL'ye ayarlanmıştır.
6. POX aktivitesi substrat çözeltisi 15 μL H_2O_2 ve 54 μL quairol 5 mM 100 mL 0.1 M fosfat tamponunda çözdürülmüştür.
7. SOD aktivitesi tampon çözeltisi ((pH: 7.8, 50 mM KH_2PO_4): 1,7 g KH_2PO_4 200 ml dH_2O 'de çözülerek son hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır.
8. SOD reaksiyonu için (13 mM metionin çözeltisi): 0,586 g metionin, 250 mL 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisinde çözdürülmüştür.
9. SOD reaksiyonu için (63 μM NBT-Nitroblue Tetrazolium Klorür): 0,0128 g NBT alınır, 250 mL 50 mM KH_2PO_4 tamponunda çözülmüştür.
10. SOD reaksiyonu için (0.1 mM EDTA-Etilen Diamin Tetra Asetik asit): 0,073 g EDTA alınır, 250 mL 50mM KH_2PO_4 tamponunda çözülmüştür.

11. SOD aktivitesi 2. çözeltisi için (13 μ M riboflavin): 500 mL dH₂O'de 0,019 g riboflavin çözülmüştür.
12. APX aktivitesi tamponu: Tamponda 50 mM K₂HPO₄, 0.2 mM EDTA, 250 mM H₂O₂ vardır.
13. GR homojenizasyon için tampon: 50 mM %1 PVP, 1 mM EDTA pH 7.0, vardır.
14. GR için tampon: 200 μ L 0.5 mM EDTA'ya 50 mM Tris-HCl (pH 7.8) ve 250 μ L 1 mM GSSG ve 500 μ L 0.25 mM NADPH eklenmiştir.
15. Süperoksit anyonu belirleme tamponu (pH: 7.8 65 mM K₂HPO₄): 70 mL dH₂O'de 1,132 g K₂HPO₄ çözdürülmüş pH: 7.8'e ayarlanarak son hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.
16. Süperoksit anyonu belirleme ölçümü için (10 mM Hidroksilamin): 10 mL dH₂O'de 0,0069 g Hidroksilamin çözdürülmüştür.
17. Süperoksit anyonu miktarının ölçülmesi için (17 mM amonyum benzoik asit (ABSA): 50 mL dH₂O'de 0,1472 g ABSA çözdürülmüştür.
18. Süperoksit anyonu miktarının ölçülmesinde kullanılır (17 mM 1-Naftilamine): 10 mL asetonda 0,243 g 1-Naftilamine çözdürülmüş ve son hacmi 100 mL'ye tamamlanmıştır.
19. LPO aktivitesi homojenat çözeltisi (%5'lik TCA (trikloroasetik asit): 100 mL dH₂O'de 5 g TCA çözdürülmüştür.
20. LPO aktivitesi reaksiyon çözeltisi (%0.5'lik TBA (tiobarbutirik asit): 20 g TCA 100 mL dH₂O'de çözdürülmüş ve %0.5 g TBA eklenerek hazırlanmıştır.
21. H₂O₂ miktarının belirlenmesi için (%5'lik Ti(SO₄)₂ (titanyum disülfat çözeltisi): 1 g Ti(SO₄)₂ 20 ml dH₂O'de çözdürülmüştür.
22. H₂O₂ miktarının belirlenmesi için (%19'luk NH₄OH): 20 ml dH₂O'de 4,16 mL NH₃ çözdürülmüştür.
23. H₂O₂ miktarının belirlenmesi için (2 M'lık H₂SO₄): %98'lik H₂SO₄'den 40 mL alınarak ve son hacmi dH₂O ile 200 mL'ye tamamlanmıştır.
24. Protein tayini için (0.05 M KH₂PO₄ (pH: 6.5): 200 ml dH₂O'da 1,7 g KH₂PO₄ çözdürülmüş, pH 6.5'e ayarlanarak son hacim 250 mL'ye tamamlanmıştır.
25. Protein tayini için (Coomassie reaktifi): 10 mg Coomassie Blue G-250 5 ml etanolde çözdürülmüş, 10 mL %85'lik fosforik asit ilave edilmiştir ve son hacmi dH₂O ile 100 mL 'ye tamamlanmıştır.

26. Salkowski çözeltisi: 1 mL %0,5 FeCl₃ çözeltisi ve 50 mL %35'lik perklorik asit kullanılmıştır.
27. %3'lük KOH çözeltisi: 100 mL dH₂O'de 3 gr KOH çözündürülmüştür.
28. %3'lük H₂O₂ çözeltisi: 3 mL H₂O₂'nin hacmi steril dH₂O ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.
29. %0,9'luk NaCl çözeltisi: 100 mL steril dH₂O'de 0,9 gr NaCl çözündürülmüştür.
30. %30'luk Gliserol: 70 mL steril dH₂O'de 30 mL gliserol çözündürülerek 121°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir.
31. %70'lik Etil alkol: 70 mL saf etil alkol son hacmi steril dH₂O 100 mL'ye tamamlanmıştır.
32. 10X Fosfat Tamponu (PBS) pH 7.0 Çözeltisi: 800 mL dH₂O'de 2 gr KCl, 14,4 gr Na₂HPO₄ 80,0 gr NaCl ve 2,4 gr KH₂PO₄ çözündürülmüş, pH 7.4'e ayarlanmış son hacim 1 L'ye tamamlanmıştır. PBS çözeltisi 121°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir.
33. 1X TAE tamponu (Tris-Asetat tamponu): 100 mL 10X TAE tamponu 900 mL steril dH₂O son hacmi 1 L'ye tamamlanmıştır.
34. 6X yükleme tamponu: 0,1 gr bromfenol blue ve 40 ml %100'lük gliserol karıştırılmış son hacim 1X TAE ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan karışım 121°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir.
35. Etidyum bromür çözeltisi: 100 mL dH₂O'de 1 gr etidyum bromür (10 mg/mL), çözündürülmüştür.

3.3.Bitki Materyalleri

Bu çalışmada, verim kapasitesi yüksek ancak ekildikten sonra ilk 3 yıl kuraklıktan etkilenen ve diğer yonca çeşitleriyle karşılaştırıldığında rejenerasyon kabiliyeti yüksek olan yonca bitkisinin (*Medicago sativa*) Savaş çeşidi kullanılmıştır. Yonca tohumları Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden (Erzurum) sağlanmıştır. Endofitik bakterilerin izole edildiği bitkiler yabani alanlarda gelişen *Opuntia ficus-indica* L. Mill, *Agave americana* L. Adana-Mersin bölgesinden toplanmıştır (36° 50.162' N 34° 11.263' E, 36° 56.010' N 34° 54.720' E).

3.4.Endofitik Bakterilerin İzolasyonu

Bitki kökleri ve yaprak/kladot yapıları kullanılarak endofitik bakterilerin izolasyonu yapılmıştır. Bunun için steril fizyolojik su içinde laboratuvara taşınan bitki örnekleri, steril dH₂O ile iyice yıkanmış ve yıkanan örneklerin daha sonra sırasıyla %70 alkol (5 dk) ve NaOCl (Sodyum hipoklorid) %2 (5 dk) içerisinde hafif çalkalanarak yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır. Örnekler steril dH₂O ile iki üç kez durulanmıştır. Sterilize edilen bitki örneklerinden 5 gr alınmış ve steril bir havan ve havaneli kullanılarak %0,9 NaCl içinde öğütülmüş ve endofitlerin salınmasını sağlamak için 28 °C'de 3 saat inkübe edilmiştir. İzolasyon, Muller Hinton agar besiyerinde seri seyreltme protokolü ile yapılmıştır. Son durulama suyu, sterilite kontrolü olarak ayrı olarak besiyerine eklenmiştir. Petriler 28 °C'de inkübe edilmiş ve koloniler toplanmıştır. Saf kültürler elde edilmiş ve sonraki deneylerde kullanılabilecek kadar gliserol stoğu olarak -80 °C'de saklanmıştır (Eke et al. 2019).

3.5.Kuraklığa Toleranslı Olan Bakterilerin Seçilmesi

Kuraklığa toleranslı olanları seçmek ve hassas olan izolatları elimine etmek için farklı dozlarda PEG-6000 (Polietilen glikol) içeren LB Broth besiyeri kullanılmıştır. Bunun için bakteriler %0, %15, %25 ve %50 PEG-6000 içeren ortamlarda geliştirilmiş ve hazırlanan bu PEG dozlarını içeren LB Broth besiyerleri, saf kültürler kullanılarak OD₆₀₀=0,2'ye ayarlanmış bakteri hücrelerinin orta log fazlı kültürü ile aşılanmıştır. Aşılanan PEG'li ortamlar, 150 rpm'lik sabit çalkalama altında 16 saat 28 °C 'de inkübe edilerek, bakterilerin büyümesi, belirli aralıklarla bir spektrofotometre kullanılarak 600 nm'de optik yoğunluk ölçülerek belirlenmiştir. Deney sonunda kuraklığa iyi tolerans gösteren bakteriler belirlenmiştir.

3.6.Bakterilerin SiO₂ NP'lerden Etkilenme Durumlarının Belirlenmesi

SiO₂ NP'leri 20 nm boyutunda olacak şekilde sigma şirketinden ticari olarak alınmıştır. MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) testi ile hücre canlılığı belirleme çalışması yapılmıştır. Bunun için kuraklık toleransı olan bakteriler, 3 saat boyunca PBS içerisinde değişen SiO₂ NP konsantrasyonuna (0,0, 0,5, 1, 3, 5 ve 10

ppm) maruz bırakılmıştır. MTT için 100 µL kontrol ve SiO₂ NP'leri (0,5-10 ppm) ile muamele edilmiş bakteri hücre örnekleri 96 kuyulu plakalara aktarılacak ve 10 µL MTT boyası (PBS içinde 5 mg/mL) ile 37 °C'de 3 saat inkübe edilmiştir. Bu şekilde üretilen formazan kristallerinin 100 uL DMSO ve 30 dk 37°C'de inkübasyona bırakılmış, ardından çok kuyucuklu okuyucu kullanılarak 570 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır (Anaganti et al. 2015; Singh et al. 2020). Bu aşamada SiO₂ NP'lerden öncelikle en yüksek dozlarda etkilenmeyen bakteriler seçilmiştir.

3.7.Bakterilerin Yoncada Patojenite Durumlarının Belirlenmesi

Bakterilerin yonca üzerinde herhangi bir patojenite ve büyüme üzerinde olumsuz bir etkisinin bulunup bulunmadığı belirlenmiştir. Bunun için yonca bitkileri saksı (torf ve kum; 3:1) ortamında 21 günlük oluncaya kadar yetiştirilmiştir. Bitki üzerinde bakteri uygulamalarının canlı ya da ölü bakteri hücrelerinde farklı olup olmadığının belirlemek amacıyla pozitif kontrol olarak öldürülmüş (120°C'de 15 dk otoklavlanmış) bakteriler de kullanılmıştır. Canlı veya ölü bakterilerin hücre yoğunluğu 10⁸ CFU/mL olacak şekilde ayarlanarak ve bitki yapraklarına (25 mL) püskürtülmüştür (Garcia-Perez et al. 2017). Kontrol bitkilerine steril dH₂O (50 mL) ve LB uygulanmış ve uygulamadan sonra, bitkilerin büyümesi 10 gün boyunca takip edilmiştir. Bitkilerde gözleme ve deneye dayalı ölçümlerle bakterilerin patojenite ve büyüme üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Bunun için yapraklarda lezyon olup olmadığı ve 10. günün sonunda bitkilerde boy uzunluğu belirlenmiş ve kontrole göre kıyaslamalar yapılmıştır.

3.8.Bakterilerin PGPB Özellikleri Açısından Değerlendirilmesi

Bu aşamada çalışılacak endofitik bakterilerin morfolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak tanılanması ve karakterizasyonları yapılmıştır. Yapılan testler, çalışılacak bakterilerin PGPB olma potansiyelleri açısından değerlendirilmiştir.

3.8.1.Gram Reaksiyon Testi

Bakteri izolatlarının hücre duvarlarındaki farklılığa göre Gram (+) ve Gram (-) olup olmadıkları belirlenmiştir. Bu işlemde steril lama %3'lük KOH çözeltisi damlatılarak nutrient agarda (NA) gelişen bakterilerden bir öze dolusu alınarak lam 30-40 sn üzerinde karıştırılmıştır. Bu karışım öze ile yukarı doğru kaldırılmış uzama (sünme) olup olmamasına göre değerlendirme yapılmıştır (Chen et al. 2008).

3.8.2.Bakterilerin Siderofor Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatlarının siderofor üretimini değerlendirmek için Schwyn ve Neilands (1987) geliştirdiği Modifiye Chrome Azurol S (CAS) agar besiyeri hazırlanarak ve hekza desil trimetil amonyum bromür (HDTMA) içeren modifiye mavi agar CAS ortamı kullanılmıştır (Schwyn and Neilands,1987). Ortam, 750 mL dH₂O'ya 100 mL MM9 tuz çözeltisi (KH₂PO₄ 15 gr, NaCl 25 gr, NH₄Cl 50 gr, dH₂O 500 mL) eklenerek hazırlanmış, pH 6'ya ayarlanmış, 32,24 gr piperazin-N, N'-bis 2-etansülfonik asit (PIPES) ve %1,5 agar ilave edilerek otoklavlanmıştır. Ortam daha sonra 50°C'ye soğutulurken, ardından 30 mL filtre ile sterilize edilmiş %10 casaminoasit solüsyonu, 10 mL %20 glukoz solüsyonu ve 100 mL boya solüsyonu (50 ml 0,06 gr chrome azurol S'nin 9 mL ile karıştırılmasıyla) hazırlanmış, 0,0027 gr FeCl₃.6H₂O (10 mL 10 mM HCl içinde çözündürülmüştür) ilave edilmiştir. Bu daha sonra çözeltiyi karıştırmak için yeterli çalkalama ile mavi bir renk elde etmek üzere 40 mL dH₂O içinde 0,073 gr HDTMA ile karıştırılmıştır. Mavi agar ortamı, steril petrilere aseptik olarak dökülmüştür. Elde edilen tüm bakteri izolatları CAS ortamına inoküle edilmiş, 28 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kolonilerin çevresinde sarımsı turuncu zonun gelişmesi, siderofor üretiminin göstergesi olarak alınmıştır (Jimtha et al. 2014).

3.8.3.Bakterilerin Azot Fiksasyonu Kapasitelerinin Belirlenmesi

Bakteri izolatların azot fiksasyonu yapıp yapmadıklarını azotsuz besiyerinde (N free besiyeri) belirlenmiştir. Besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dk steril edilmiştir, 45°C'ye düştüğünde petrilere dökülmüştür (Han et al. 2005). Stok bakteri kültürlerinden NA çizgi ekim yapılarak canlandırılmış, 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri izolatlarının

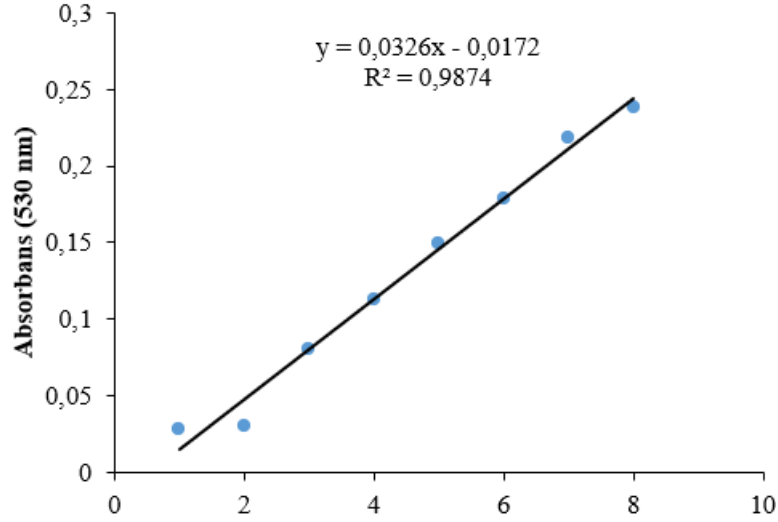
azotsuz besiyeri ortamına ekimi yapılmış ve 25-27°C’de 7-10 gün gelişimi beklenmiştir. Azotsuz ortamda gelişim gösterenler pozitif olarak tanılanmıştır.

3.8.4.Bakterilerin ACC Deaminaz Aktivite Testi

Bakteri izolatlarınınACC-deaminaz aktivitesi, Penrose ve Glick (2003) yöntemine göre belirlenmiştir. Dworkin & Foster tuz ortamı (DF) hazırlanarak otoklavlanmıştır (ACC hariç). DF besiyerini hazırlamak için: 2 gr glukoz; 4 gr KH_2PO_4 ; 5 mM (670 mg) malik asit; 2 gr sitrik asit; 6 gr Na_2HPO_4 ; 10 μg MoO_3 ; 0,2 gr $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1 μg $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 50 μg CuSO_4 ; 70 μg ZnSO_4 ; 10 μg MnSO_4 ; 2 gr $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (pozitif kontrol için); 20 gr agar eklenerek 1000 mL dH_2O içerisinde çözünüp 121 °C’de 15 dk otoklav yapılmıştır. Hazırlanan DF besiyeri 40 °C’ye kadar soğutulup petrilere dökülmüş, bu besiyeri aynı zamanda negatif kontrol (NK) olarak da kullanılmıştır. Pozitif kontrol (PK) olarak içine 2 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ eklenmiş DF besiyeri kullanılmıştır. ACC deaminaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla azot kaynağı olarak kullanılacak olan 600 mg/L ACC (6 mM) filtreden geçirilerek 100 μL olarak DF Petrilere emdirilmiştir. Bakteriler petriye çizgi ekim yapılmıştır. Ekim sonrası 28 °C’de 72 saat boyunca inkübasyona bırakılmış. Gelişim gösteren bakteri izolatları ACC deaminaz üretimi açısından pozitif olarak tanılanmıştır (Jasim et al. 2013).

3.8.5.Bakterilerin IAA Hormonu Üretme Potansiyeli

İzole edilen endofitik bakterilerin saf kültürleri %0,1 triptofan bulanan Nutrient Broth (NB) içerisinde, 150 rpm çalkalama hızında, 28 °C’de 5 gün inkübe edilmiştir. Daha sonra örneklerden 10 mL alınıp 12.000 x g’de 15 dk santrifüj edilmiştir. 2 mL süpernatanta yaklaşık 50-100 μL konsantre orto-fosforik asit ve 4 mL Salkowski ayracı eklenip iyice karıştırılmıştır. Örnekler 40 dk ışık almayan karanlık bir ortamda inkübe edilerek renk değişimi sağlanmıştır. Örneklerdeki IAA miktarını hesaplamak için saf IAA ile hazırlanmış standart bir eğriden faydalanılmıştır (Şekil 3.1). Renk oluşumu sonrası örneklerin absorbansı bir nanodrop spektrofotometrede 530 nm dalga boyunda belirlenmiştir (Karakaş vd. 2022).



Şekil 3.1. IAA standart grafiği

3.8.6.Bakteri İzolatlarının Katalaz ve Oksidaz Aktivitesi Testleri

İzole edilen bakterilerde katalaz enzimini tespit etmek için, taze geliştirilen bakteriler öze yardımıyla alınmıştır. Üzerine %3'lük H_2O_2 eklenerek oksijen çıkışına bakılmıştır. Kabarcıkların çıktığı durum pozitif olarak değerlendirilmiştir (Klement et al. 1990).

Oksidaz testi için besi ortamlarında gelişen bakteri kültürlerinde gelişen kolonilerden alınmış oksidaz striplerine (Merck) sürülmüştür. Renk değişimine göre pozitif ve negatif olarak değerlendirilmiştir.

3.9.Bakteri İzolatlarının Moleküler Tanılanması

İzole edilen bakteri örneklerinden genomik DNA izolasyonu NAda gelişen bakteriler ependorf tüplerine alınmıştır. Ecotech Genomic DNA Kit, protokolüne göre DNA izolasyonları yapılmıştır. Bakterilerin 16S rRNA gen bölgeleri evrensel primerler (forward primer olarak; 27F=5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTCAG-3' ve reverse primer olarak; 1492R=5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') kullanılarak PCR ile çoğaltılmıştır. PCR'da, 10X PCR Buffer 5 μ L; dNTP mixinden (dATP, dGTP, dCTP, dTTP, 10 mM) 1 μ L; forward ve reverse primer 1 μ L; $MgCl_2$ (50 μ M) 4 μ L; 5 unit/ μ L Taq DNA polimeraz 0,5 μ L ve ddH₂O 35,5 μ L toplam 48 μ L'lik karışıma 2 μ L DNA

eklenmiş ve son hacim 50 µL olmuştur. Örnekler PCR cihazına yerleştirilmiş, reaksiyon döngüsü, 95°C 2 dk, 94°C 1 dk, 53°C 1 dk, 72°C 90 s olarak programlanmış, reaksiyon 35 döngü ve final uzaması 72°C 10 dk şeklinde tamamlanmıştır. PCR ürünleri elektroforez ile görüntülenmiştir. Jel sistemi 90 volt 50 dk yürütülmüş ve DNA bantları, jel görüntüleme sistemiyle görüntülenmiştir. BioEdit proramı kullanılarak 16S rRNA gen bölgesine ait sekans analizleri değerlendirilmiştir. GenBankdaki dizi analizleriyle MEGA11 programı kullanılarak filogenetik ağaç çıkarılmış ve tür seviyesinde tanılama yapılmıştır (Simsek Geyik et al. 2024, Tamura et al. 2021).

3.10.Yoncada Kuraklık Sağlayacak PEG-6000 Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

In vitro'da, bitki rejenerasyonu için yonca tohumları %2'lik NaOCl içerisinde 10 dk 300 rpm karıştırıcıda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Steril kabinde tohumlar 3 kere steril suyla yıkanmıştır. Hazırlanan MS (Murashige ve Skoog besiyeri) besiyerleri %0, %5, %10, %15, %20 ve %25 PEG-6000 içerecek şekilde hazırlanmış ve besiyerleri otoklavda 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dk sterilize edilmiştir. Bitki kök-gövde büyümesi ve kuru ağırlığı bulgularına göre, bitki büyümesini %50 ve %75 oranında inhibe eden 2 doz PEG-6000 konsantrasyonu belirlenmiştir (Murashige and Skoog 1962).

3.11.Yoncada SiO₂ NP'lerinin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Büyümeyi olumlu etkileyen en etkili iki SiO₂ NP dozunu belirlemek için 0,2, 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 ve 3 ppm SiO₂ NP dozları *in vitro* olarak çalışılmıştır. Bu dozlar içinde yonca büyüme ve gelişmesini (kök-gövde uzunluğu ve kuru madde miktarı bakımından) en etkili 2 doz belirlenmiştir.

3.12.Yoncada SiO₂ NP'leri ve Bakterilerin Birlikte Uygulanması

In vitro denemeler için bakteriyle muamele şu şekilde yapılmıştır. 28 °C'de 150 rpm sürekli çalkalama ile 16 saat büyüyen bakteri hücreleri 2 dk 8000 rpmde santrifüj edilmiş ve pelletler salin (%0,9) içinde süspanse edilmiştir. Daha sonra spektrofotometre kullanarak OD₆₀₀=0,5 nihai bakteri titresini elde etmek için deiyonize su içinde

seyreltmeler yapılmıştır. Sterilize edilmiş tohumlar bir petri içinde 15 mL bakteri süspansiyonu (0,5 OD600 birim) içinde ıslatılmıştır. Kontrol setleri eşit hacimde steril distile su ile ıslatılmıştır (Eke et al. 2019).

In vitro'da, yonca tohumları %2'lik NaOCl içerisinde 10 dk 300 rpm karıştırıcıda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Steril kabinde tohumlar 3 kere steril suyla yıkanmıştır. Hazırlanan MS besiyerleri yoncada büyümeyi %25 ve %50 inhibe eden PEG-6000 ve belirlenen 2 doz SiO₂ NP'leri içerecek şekilde hazırlanmıştır (SiO₂ pH'ı 6-6.8 iken MS ortamı pH'ı 5.5-6 olarak ayarlanmıştır.) ve besiyerleri otoklavda 121 °C'de 1 atm basınçta 15 dk sterilize edilmiştir. Petri kabına yaklaşık 20-25 yonca tohumu (bakteriyle muamale edilen bu muamale her bakteri için ayrı ayrı tekrarlanacak yukarıda detayları verilmiştir) ekilerek 3 hafta 16/8 saat beyaz floresan ışıktaki ve 25±2°C'de (gündüz/gece) bekletilerek rejenere olması sağlanmıştır. 3 hafta sonra, bitkilerin kök ve gövdeleri hasat edilerek ve analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Uygulamalar aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

(1 Bakteri İçin) 0,0 (Kontrol); PEG-1; PEG-2; SiO₂ NP-1; SiO₂ NP-2; Bak-1 (1. Bakteri); PEG-1+SiO₂ NP-1+ Bak-1; PEG-1+SiO₂ NP-2+ Bak-1; PEG-2+SiO₂ NP-1+ Bak-1; PEG-2+SiO₂ NP-2+ Bak-1 Kısaltmalar: PEG-1: Birinci PEG dozu; PEG-2: İkinci PEG dozu; SiO₂ NP-1: Birinci SiO₂ dozu; SiO₂ NP-2: İkinci SiO₂ dozu.

PEG1: %10, PEG2 %20, NP1:2 ppm, NP2 2,5ppm.

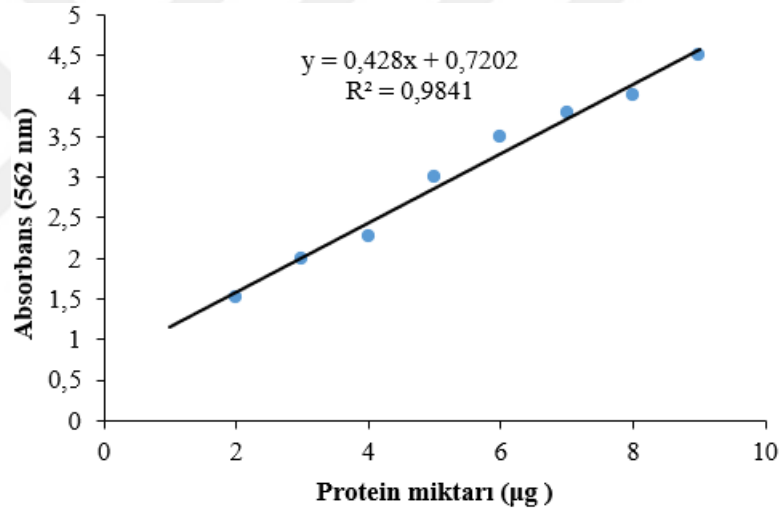
3.13.Uygulamaların Yoncada Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri

3.13.1.Kök-Gövde Uzunluğunun Belirlenmesi

Bitki fide örneklerinden alınarak kök gövde uzunluğu ölçülmüş ve ortalamaları alınarak hesaplanmıştır.

3.13.2. Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi

Bitki yaprak örneklerinden rastgele alınan 0,5 gr doku havanda sıvı azot homojenize edilmiştir. 5 mL homojenizasyon tamponu (100 mM KH_2PO_4 , pH 7.0) eklenmiş, dokular parçalanmıştır. Tüpler, +4 °C’de 15,000 rpm’de 15 dk santrifüj edilerek süpernatantlar başka tüpe aktarılmıştır. Süpernatanttan 20 µl alınarak üzerine 200 µl BCA (bişikonik asit) reaktifi eklenmiştir. Kısa bir süre pleytler çalkalanarak 60 °C’de 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin absorbansı 562 nm’de nanodropta okunmuştur. Standart grafik için BSA (bovine serum albumin) çözeltisi hazırlanarak kullanılmıştır. 200 µl BCA reaktifi kör olarak kullanılmış örnekler için protein miktarı (µg protein/gr doku) belirlenmiştir (Şekil 3.2) (Smith et al. 1985).



Şekil 3.2. Protein standart grafiği

3.13.3. Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Bitki yaprak örneklerinden 0,2 gr alınmış üzerine 15 mL %80’lik soğuk aseton ilave edilmiş ve homojenizasyon işlemine devam edilmiştir. Örnekler, 5000 rpm 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak 470, 645 ve 663 nm absorbanslarda spektrofotometre kullanılarak okunmuştur. Aşağıdaki formül kullanılarak üç farklı dalga boyundaki absorbans değerleriyle 1 g bitki yaprak dokusundaki klorofil a, klorofil b, total klorofil miktarları belirlenmiştir (Lichtenthaler and Wellburn 1983).

mg klorofil a / g doku: $((12,7*(D_{663}) - 2,69*(D_{645})). (V/1000*W)$

mg klorofil b/ g doku: $((22,9*(D_{645}) - 4,68*(D_{663})). (V/1000*W)$

mg toplam klorofil / g doku: $((20,2*(D_{645}) + 8,02*(D_{663})). (V/1000*W)$

D: Klorofil ekstraktının dalga boylarındaki absorbans değeri

V: %80'lik aseton son hacmi

W: Ekstre edilen doku gram olarak yaş ağırlığı gösterilmiştir.

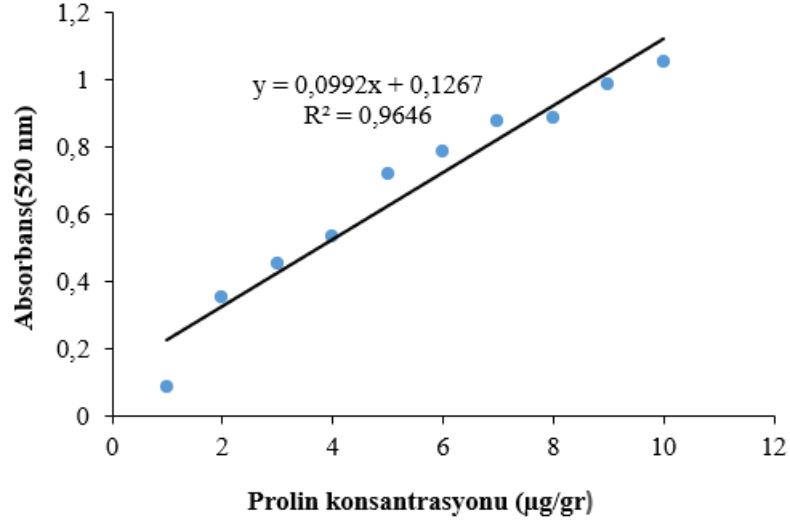
3.13.4.Yapraklardaki Canlılık Testi

Rastgele seçilen taze bitki yaprak örnekleri 10 mm çapında diskler şeklinde kesilmiştir. Kesilmiş yüzeylerdeki elektrolit sızıntısını gidermek için diskler steril dH₂O kullanılarak yıkanmıştır. Her tüpe 5 yaprak disk ve 10 mL steril dH₂O eklenmiştir. Tüpler bir tüp karıştırıcıda 25°C 80 rpm'de 12 saat inkübe edildikten sonra elektrik iletkenlik (EC1) değerleri (µS/cm) bir elektrik kondüktivimetre cihazı (EC metre) ile belirlenmiştir. Daha sonra aynı tüpler 121°C'de 15 dk otoklavlanmış, tüm dokuların ölmesi sağlanmış ve numuneler 25°C'ye soğutulup EC değerleri tekrar belirlenmiştir (EC2). Bitki örneklerinin elektriksel iletkenliği (%EC) hesaplanmıştır (Kaya et al. 2013).

$$\%EC = (EC2 - EC1 / EC2) \times 100$$

3.13.5.Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

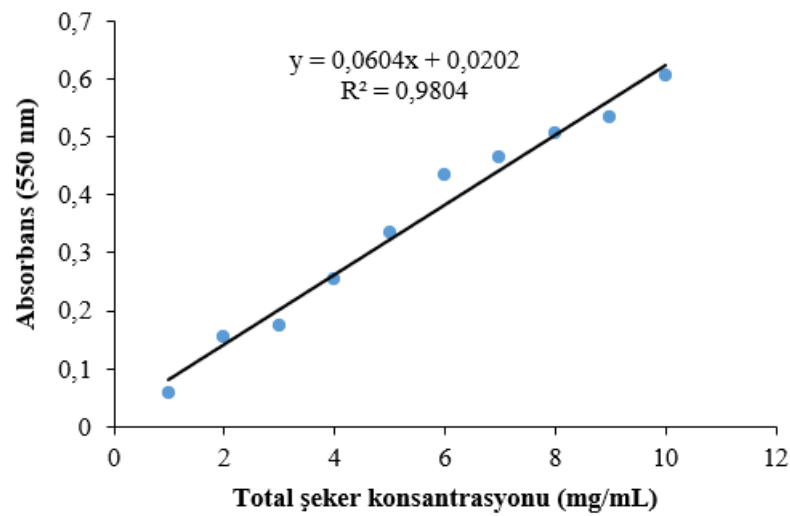
Prolin miktarını belirlemek için 0,1 gr bitki yaprak örneği alınarak ve 10 mL 3%'lük sülfosalisilik asitle homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım 12.000 x g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra 2 mL süpernatant üzerine 2 mL asit ninhidrin ilave edilmiştir. 100°C'de 1 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon karışımı 4 mL tolüenle ekstrakte edilmiştir. Sulu fazdan tolüen aspire edilmiş ve oda sıcaklığında bekletilerek 520 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır. Örneklerdeki prolin miktarı saf prolinle hazırlanan standart grafik üzerinden hesaplanmıştır (Şekil 3.3.) (Bates et al. 1973).



Şekil 3.3. Prolin standart grafiği

3.13.6.Total Şeker Miktarının Belirlenmesi

Bunun için 0,2 gr bitki örneği, soğuk 5 mL 2,5 N HCl ile homojenize edilmiştir. 9.000 x g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra 2 mL DNSA çözeltisi ilave edilmiştir. Örnekler, 20 dk 90 °C su banyosunda bekletilmiştir. Tüpler buz banyosuna alınarak soğuyana kadar bekletilmiştir. 550 nm absorbansta üç tekrarlı ölçülmüş ve önceden hazırlanmış standart grafik kullanılarak total şeker miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.4) (Miller 1959; Sadasivam and Manickam 1992).



Şekil 3.4. Total şeker standart grafiği

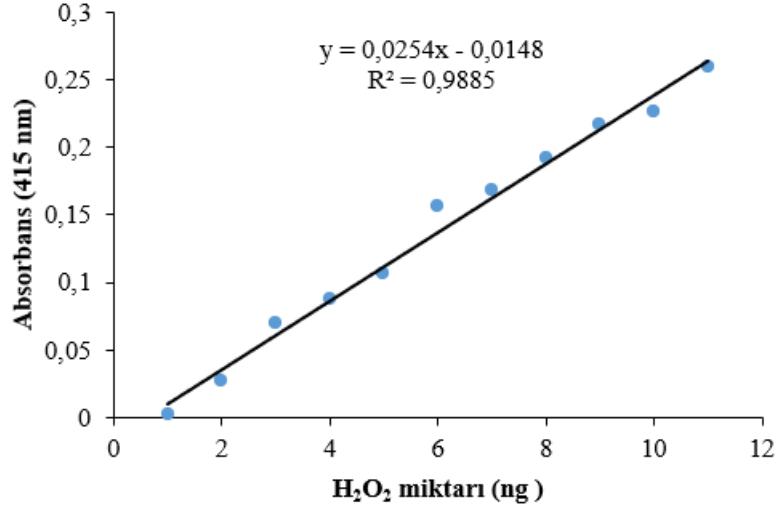
3.13.7.Dokularda Lipid Peroksidasyonu Seviyesinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu seviyesi (MDA: malondialdehid eşdeğeri olarak), Ananieva et al. (2004) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. Buna göre, 0,2 gr yaprak örneği önce sıvı azotta ve sonra 2 mL %5'lik TCA ile homojenize edilmiştir. Homojenat +4 °C'de 10.000 x g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Tüpün süpernatant kısmından 500 µL alınmış ve üzerine 500 µL %1'lik TBA çözeltisi ilave edilmiştir. Kör örnek için süpernatant kısmından 500 µL alınmış ve üzerine 500 µL dH₂O koyularak ve aynı işlemler yapılmıştır. Reaksiyon karışımı 95 °C'de su banyosunda 30 dk inkübe edilmiş ve sonra tüpler hemen buz banyosuna alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Tekrar 10 dk 3000 x g'de santrifüj edilerek, süpernatant kısmından 200 µL alınmış 532 ve 600 nm'de okuma yapılmıştır.

Lipid peroksidasyonu hesaplaması için; 532 nm absorbans değerinden 600 nm değeri çıkarılarak ve 1 mL çözeltideki MDA (nmol/mL): $[(A_{532}-A_{600})/155000] \times 10^6$ formülü kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar MDA'yı (nmol/gram doku) vermiştir (Ananieva et al. 2002).

3.13.8.Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarının Belirlenmesi

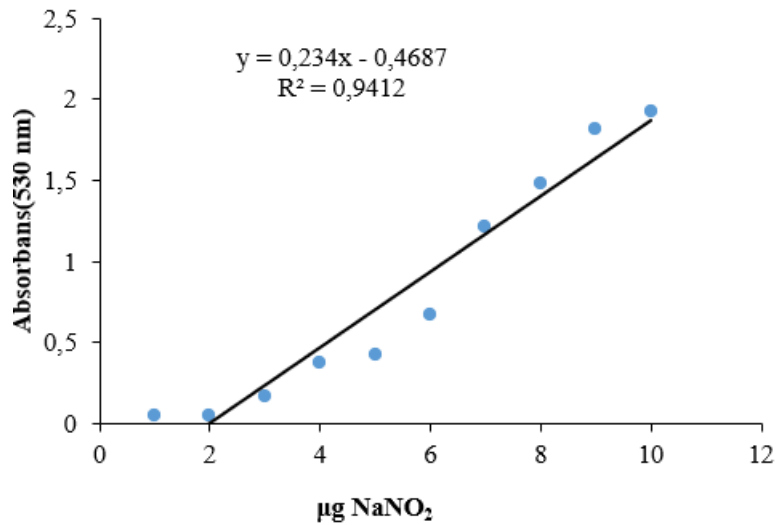
H₂O₂ içeriğini belirlemek için, yüksek hassasiyeti olan Ti(SO₄)₂ (Titanyum disülfat) metoduna göre yapılmıştır. 0,5 gr bitki dokusu 10 mL soğuk aseton içinde homojenize edilmiştir. Homojenat 12.000 x g'de 15 dk santrifüj edilmiştir. 1,5 mL süpernatant 0,3 mL %19'luk NH₄OH ve 0,15 mL %5'lik Ti(SO₄)₂ ile karıştırılmıştır. Pellet oluşumu sonrası karışım 10.000 x g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve tüpün süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Pellet 3 mL 2 M H₂SO₄ içinde çözdürülmüş ve 415 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Standart grafikten faydalanılarak ng H₂O₂ miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.5) (Hu et al. 2005).



Şekil 3.5. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.13.9. Süperoksit Anyonu (O₂⁻) Miktarının Belirlenmesi

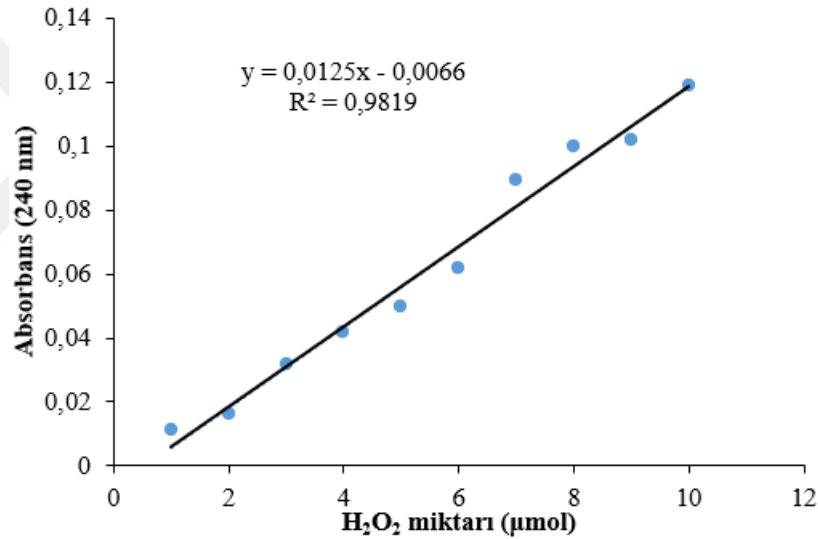
Bunun için 0,5 gr tartılan yaprak örnekleri 2 mL pH 7.8 65 mM soğuk fosfat tamponunda homojenize edilmiştir. Homojenat 10.000 x g'de 10 dk santrifüj edilmiş ve 1 mL alınan süpernatant üzerine 0,1 mL 10 mM hidroksilamin hidroklorid ve 0,9 mL fosfat tamponu eklenmiştir. Çözelti karıştırılmış ve 25 °C'de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Karışımdan 1 mL alınarak üzerine 1 mL 17 mM 1-naftilamin ve 1 mL 17 mM sulfonik asit eklenmiş karıştırılmıştır. 20 dk 25 °C'de inkübasyona bırakılmış, 3 mL n-butanol eklendikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de ölçüm yapılmıştır. Standart grafikten faydalanılarak O₂⁻ miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.6) (Eltner and Heupel 1976).



Şekil 3.6. Süperoksit anyonu miktarı belirlemede kullanılan standart grafik

3.13.10.Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

Bu deneyde 0,5 g yaprak örneklerine soğuk homojenat tamponu %1 PVP ve 1 mM EDTA 0,1 M KH_2PO_4 pH 7.0) 5 mL olarak eklenmiştir. 15,000 x g ve +4 °C'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant sonraki antioksidan enzim aktivitelerinin ölçümünde enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. CAT aktivitesi ölçümünde 3 mL'lik spektrofotometre küvetine, 1,75 mL 103 mM KH_2PO_4 tamponun ve 1,5 mL 40 mM H_2O_2 substrat çözeltisi ve 25 μL enzim ekstraktı eklenmiştir. Küvet spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 3 dk boyunca 0,5 dk aralıklarla okunmuştur. Standart grafikten faydalanılarak H_2O_2 miktarı belirlenmiştir (Şekil 3.7) (Nakano and Asada 1981; Gong et al. 2001).



Şekil 3.7. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

3.13.11.Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD aktivitesi için 3 mL reaksiyon karışımında 13 mM metiyonin, 75 μM NBT, 50 mM KH_2PO_4 (pH 7.8), 2 μM riboflavin ve 01 mM EDTA bulunmaktadır. Spektrofotometre küvetine riboflavinsız karışımdan 2,84 mL alınarak üzerine 100 μL enzim ekstraktı eklenmiştir. Reaksiyona 60 μL 100 μM 'lık riboflavin eklenerek karıştırılmış, beyaz bir ışık kaynağı tüp yerleştirilmiştir. 15 dk bekletilerek ve ışık kaynağı kapatılarak durdurulmuştur. 560 nm'de NBT renk açılma yoğunluğu kör varlığında ölçülmüştür (Yordanova et al. 2004).

3.13.12.Peroksidaz (POX) Aktivitesinin Belirlenmesi

POX aktivitesi için 100 mL 0,1 M, NaH_2PO_4 (pH 5.5) ve 5 mM guaiakol olan substrat çözeltisinden 3 mL spektrofotometre küvetine koyulmuş, 10 μL enzim ekstraktı eklenmiştir. 470 nm’de 5 dk boyunca absorbans artışı 1 dk aralık olacak şekilde ölçülmüş ve absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımda absorbans artışı 1 dk’ya oranlanarak değerlendirilmiştir (Yee et al. 2002).

3.13.13.Askorbat Peroksidaz (APX) Aktivitesinin Belirlenmesi

APX aktivitesi için 50 mM Potasyum fosfat tamponu (pH 7), 250 μM ASA, 5 mM H_2O_2 ve 100 μL enzim ekstraktı içeren 3,1 mL’lik reaksiyon karışımı aktivite ölçümünde kullanılmıştır. APX 290 nm absorbansta ölçülerek, $2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplanmıştır. (Nakano and Asada 1981).

3.13.14.Glutatyon Redüktaz (GR) Aktivesinin Belirlenmesi

Substrat olarak 1 mM GSSG ve 0,25 mM NADPH kullanılmıştır. Yükseltgenmiş olan glutatyon, enzim tarafından indirgenmesi için indirgeyici ajan olarak NADPH kullanılmıştır. Aktivite tayini için 3 mL quartz küvet içerisine, 0,5 mM EDTA içerisinde hazırlanmış 50 mM Tris-HCl (pH 7.8) 200 μL , 1 mM GSSG 250 μL , 0,25 mM NADPH 500 μL ve 50 μL enzim ekstraktı eklenmiştir. NADPH’in oksidasyonu 340 nm’de 5 dk boyunca meydana gelen absorbans azalışı ölçülerek belirlenmiştir (Foyer and Halliwell 1976).

3.14.SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)

Yaprak örnekleri 0,05 M tamponda (0,2 M NaH_2PO_4 , 0,2 M Na_2HPO_4) 25 °C’de 1 saat, fiksatif tamponunda (0,05 M tampon, 3%lik glutaraldehit) 2 saat bekletilmiştir. Buz üzerinde 0.05 M tamponda 1 saat bekletilerek, steril dH_2O ’da 30 dk bekletilmiştir. Dokulardaki suyu uzaklaştırmak için sırasıyla %10’dan %100’e kadar hazırlanan etil

alkolde 25 °C 15 dk seri inkübasyonlar yapılmıştır (Rolls et al. 2012). Görüntüleme Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında hizmet alımıyla yapılmıştır.

3.15.Bakteri Uygulanan Bitkilerden Endofitik Kolonizasyon Doğrulanması

Uygulaması yapılan endofitlerin bitki dokusundaki kolonizasyonunu göstermek için bakteri izolatlarının uygulandığı yonca bitkisinin yaprakları kullanılmış ve endofitlerin hücredeki varlığını belirlemek amacıyla izolasyon işlemi yapılmıştır. Yaprak örnekleri steril dH₂O iyice yıkanarak sırasıyla %70 alkol (5 dk) ve NaOCl %2 (5 dk) içerisinde hafif çalkalanarak yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır. Örnekler steril dH₂O ile iki üç kez durulanmıştır. Sterilize edilen yonca örneklerinden alınmış ve steril bir havan ve havaneli kullanılarak %0,9 NaCl içinde öğütülecektir ve endofitlerin salınmasını sağlamak için 28 °C'de 3 saat inkübe edilmiştir. İzolasyon, Muller Hinton agar besiyerinde seri seyreltme protokolü ile yapılmıştır. 28 °C'de inkübe edilecek ve koloniler toplanmıştır (Eke et al. 2019).

Simsek Geyik et al. (2024) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. BioEdit proramı kullanılarak 16S rRNA gen bölgesi sekans analizleri okunmuştur. Uygulama yapılan bakteri izolatlarıyla karşılaştırılmıştır.

3.16.Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (CLSM)

Mikrotomla kesit alma: Yaprak örnekleri 10% formaldehitte 3 gün bekletilmiştir. 1 gece musluk suyunda yıkamaya bırakılıp, sırasıyla %70, 80, 96'lık etil alkolde, absol-I, absol-II, ksilol-I, ksilol-II 'de 1 saat bekletilmiştir. Parafine gömülüp, Leica RM 2.125 RT mikrotomla (Atatürk Üniversitesi Veterinerlik bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalından kesit alınmıştır) 6 µm kalınlığında kesit alınarak lamaların üzerine kesitler aktarılmıştır. Slaytlar 25 °C 'de saklanmıştır (Wallington 1979).

Slaytların boyanması: SiO₂ özgül Rhodamine B (N-[9-2-karboksifenil-6-(dietilamino)-3H-ksanten-3-iliden]-N-etiletanaminyum klorür) boyama yapılmıştır. Atatürk üniversitesinde DAYTAM (Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma

Merkezi) bünyesindeki Lazer taramalı konfokal mikroskopuyla (Nikon Eclips TE2000) görüntü alınmıştır (Tang et al. 2013).

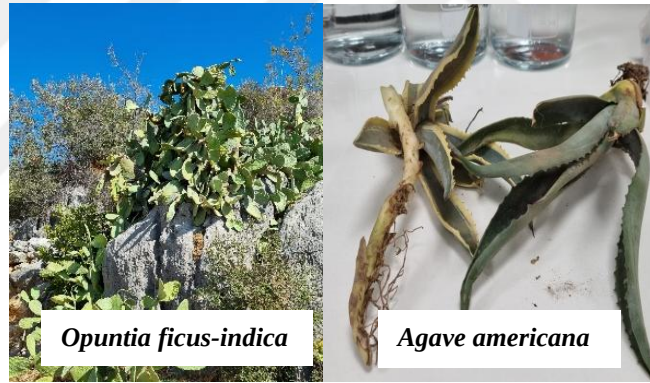
3.17.İstatistiksel Analiz

Çalışmada, her uygulama için üç bağımsız örnek (paralel) alınmış ve her örnekten üçer tekrar yapılarak toplam dokuz ölçüm değeri elde edilmiştir. Elde edilen bu değerlerin ortalamaları değerlendirilmiştir. Sonuçların istatistiksel analizi, SPSS 27 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yapılmış, gruplar arasındaki farklar $p<0,05$ anlamlılık seviyesinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir (IBM Corp. 2020).

4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1.Bitki Materyallerinin Değerlendirilmesi

Opuntia ficus-indica L. Mill, *Agave americana* L. bitki örnekleri Adana-Mersin bölgesinden toplanmıştır (Şekil 4.1). Yonca tohumları Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan bitkiler ilk defa sistematik olarak toplanarak araştırma materyali olarak değerlendirilmiştir. Türkiye’de kaktüs ve sukulent bitki türleriyle yapılmış sınırlı çalışmalar ileriye taşınarak tarımsal ekolojik ve biyoteknolojik potansiyellerinin araştırılması giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Literatürde kaktüs ve sukulentlerin Türkiye koşullarındaki performanslarına dair eksiklik göz önünde bulundurulduğunda verilerimiz yeni yapılacak bilimsel çalışmalar için önemli bir kaynak olacaktır.

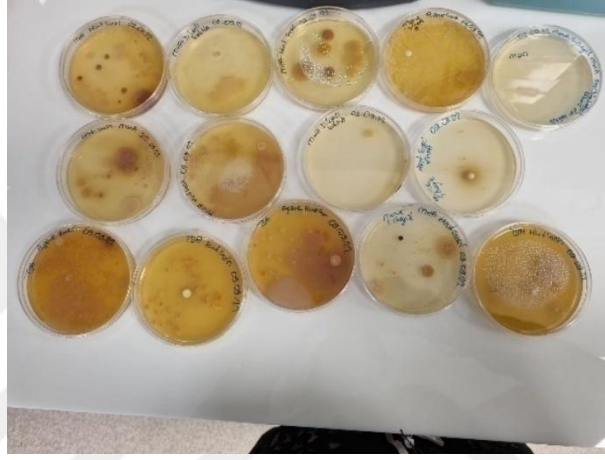


Şekil 4.1.Çalışılan bitki örneklerine ait görseller

4.2.Bitkilerden Endofitik Bakteri İzolasyonun Değerlendirilmesi

Her iki bitki türü kullanılarak toplam 40 bakteri izole edilmiş ve izolatlar isimlendirilmiş bundan sonraki deneylerde bu izolatlardan devam edilmiştir (Şekil 4.2). Yapılan önceki çalışmalarda, *O. ficus-indica* ve *A. americana* bitkileri kök ve gövdelerinden endofitik bakterilerin izolasyonunda benzer yöntemlerin kullanıldığı gösterilmiştir. Govindasamy et al. (2022) çalışmasında *O. ficus-indica* kaktüs köklerinden morfolojik olarak farklı 179 endofitik aktinobakteri izole edilmiştir. Abdelmoghies et al. (2024) çalışmasında *Matthiola incana*, *Solanum tuberosum*, *O. ficus-indica* gövdelerinden, yapraklarından ve köklerinden ve *Acacia* sp. ağaçlarının

fidelerinden bitki büyümesini artırma ve patojenleri kontrol etme yeteneğine sahip toplam 62 endofitik bakteri izole edilmiştir. García-Pérez et al. (2024) çalışmasında *A. americana*'dan izole edilen yerel rizobik suşlar *Rhizobium* sp. ACO-34A ve *Mesorhizobium* sp. 28A bakterileri kullanılmıştır. Bu sonuçlar doğrultusunda, her iki bitki türünün de mikrobiyal olarak zengin ve endofitik bakteri izolasyonu açısından uygun kaynak olduğu görülmüştür. Yapılan çalışma literatürdeki verileri destekleyerek endofitik bakteri çeşitliliğinin farklı bitki türleri dokularında gözlemlenebileceğini sayı ve çeşit olarak farklılık göstereceğini ortaya koymuştur.



Şekil 4.2. İzole edilen endofitik bakteriler

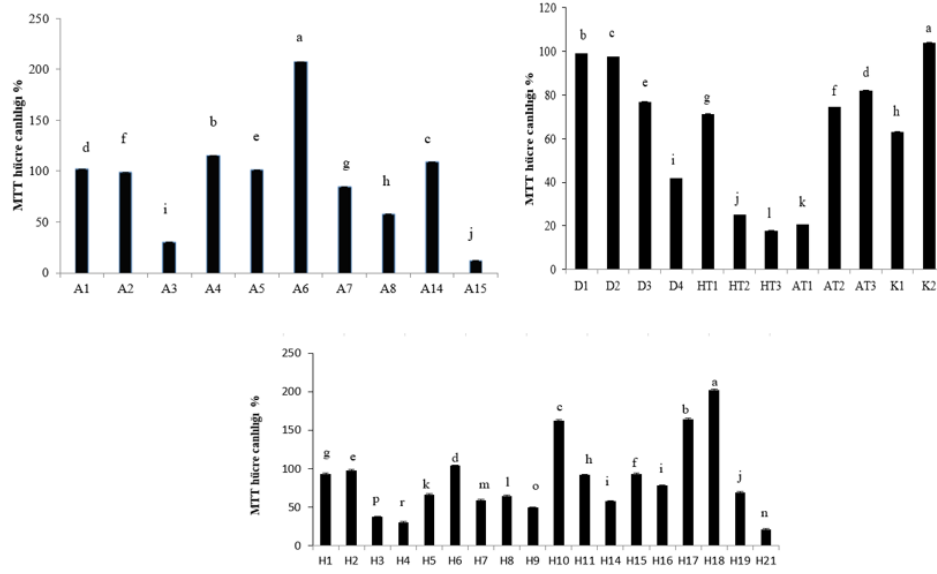
4.3. Kuraklığa Toleranslı Olan Bakterilerin Seçiliminin Değerlendirilmesi

Bitkilerden endofitik bakteriler izole edildiğinde kuraklığa toleranslı olanları seçmek ve hassas olan izolatları elimine etmek için farklı dozlarda PEG-6000 (PEG) içeren LB Broth besiyeri kullanılmıştır. Bunun için bakteriler %0, %15, %25 ve %50 PEG içeren ortamlarda geliştirilmiştir. Bakterilerden öncelikle %50 PEG ortamında gelişenler, %50 PEG'de yoksa %25 ortamında gelişenler, bu dozda da yoksa %15 ortamında gelişenler tercih edilmek için uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre tüm bakteriyel izolatlar %50 PEG konsantrasyonunda gelişim göstermiştir, bu da tüm izolatların yüksek kuraklık stresi toleransına sahip olduğunu ortaya koymuştur. Yapılan diğer çalışmalarda da kuraklığa toleranslı bakterilerin izolasyonu için benzer yöntemler kullanılmıştır. Aslam et al. (2018) çalışmasında Buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisinden izole edilen toplam 150 izolat, LB besiyerinde farklı seviyelerde PEG kullanılarak kuraklığa dayanıklılık açısından test edilmiştir ve sadece 50'si -0,31 ila -

3,20 MPa aralığındaki ozmotik potansiyellerde büyümüşür. Meenakshi et al. (2019) çalışmasında 14 endofitik bakteri, 4 yayla pirinç (*Oryza sativa* L.) çeşidinin kök dokusundan izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bu izole edilen bakteriler, farklı PEG katkılı besin suyu ortamında kuraklığa dayanıklılıkları açısından daha fazla taranmış. 14 endofitik izolattan sadece üç izolat %30 PEG'de büyümüşür. Literatür verileriyle karşılaştırıldığında %50 PEG yüksek ozmotik stres ortamında tüm izolatların büyümesi dikkat çekicidir. Bitki örneklerinin ekstrem çevre koşullarına dirençli endofitik mikrobiyal topluluklara sahip olduğu hipotezi desteklenmiştir. Sonuç olarak çalışmada izole edilen endofitik bakterilerin tamamının yüksek dozda PEG konsantrasyonlarında büyüme göstermesi, bu mikroorganizmaların potansiyel kuraklık biyotolerans mekanizmalarının ileri analizlerle araştırılması gerektiğini ortaya koymuştur.

4.4.Bakterilerin SiO₂ NP'lerden Etkilenme Durumlarının Değerlendirilmesi

İzole edilen bakterilerin tamamı, 10 ppm SiO₂ NP'lerine maruz bırakılmıştır. İzolatların büyük çoğunluğu (%77,5) %50'nin üzerinde canlılık göstermiştir. 9 bakteri (A3, A15, AT1, HT2, HT3, H3, H4, H9 ve H21) %50'nin altında kalmıştır. Bu izolatların da potansiyel biyolojik aktivitelerinin farklı koşullarda ortaya çıkabileceği göz önünde bulundurularak süreçten elimine edilmemiştir. Bu nedenle diğer uygulamalara bu bakteriler de dahil edilmiştir (Şekil 4.3). Yapılan diğer çalışmalarda bakterilerin farklı kimyasal ajanlara karşı gösterdiği etkilerin belirlenmesi amacıyla benzer metodolojiler literatürde yaygın olarak kullanılmaktadır. Anaganti et al. (2015) çalışmasında, bakteriye farklı dozlarda tellurit uygulanmıştır 40 uM tellurit öldürücü etkisi olurken 4 uM tellurit böyle bir etkisi bulunmamıştır. Singh et al. (2020) çalışmasında, MTT testi sonucuna göre ZnO NP 80 ug/mL dozunda bakteri hücrelerinde gelişim görülmemiştir. Literatür verileriyle kıyaslandığında çalışma sonuçları, kuraklığa dirençli bitkilerden izole edilen endofitik bakterilerin sadece kuraklık stresine değil, NP'lere karşı da belirgin bir dirence sahip olduğunu göstermiştir.

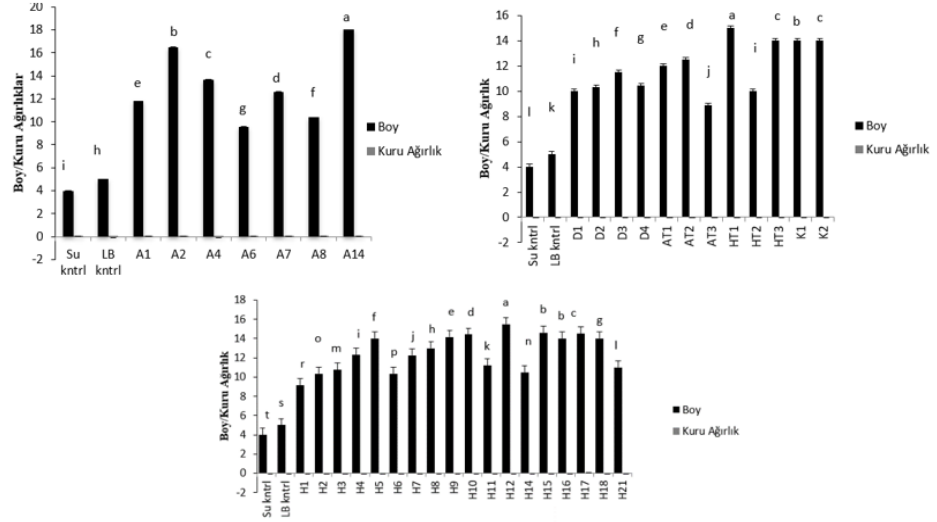


Şekil 4.3. Bakteri izolatları SiO₂ muamelesi MTT sonuçları

4.5. Bakterilerin Yoncada Patojenite Durumlarının Değerlendirilmesi

İzole edilen tüm bakterilerin yoncada patojenite veya yoncanın büyümesi üzerinde olumsuz bir etkisinin bulunup bulunmadığını belirlemek için uygulama yapılmıştır. Bitkilerin büyümesi 10 gün boyunca takip edilerek, yapraklarda lezyon olup olmadığı gözlemlenmiştir. Bitkilerde boy uzunluğu ve kuru ağırlık ölçümleri yapılarak kontrole göre değerlendirilmiştir. Kontrol grubu olarak bakterilerin büyütüldüğü LB besi yeri ve su kullanılmıştır (Şekil 4.4, 4.5). Genel olarak lezyon gelişmemekle birlikte bazı uygulamalarda kurumalar olmuştur. Ancak sistematik bir patojenite belirlenmediğinden tüm izolatlarla diğer deneylere devam edilmiştir. Bakteri izolatlarının uygulandığı yonca bitkisinde A6, A8 ve AT3 dışındakiler kontrol grubu olan su ve LB uygulamalarına göre 2 kattan daha fazla büyüme göstermiştir. Sonuçlar bu izolatların bitki büyümesini teşvik etme açısından potansiyelinin olduğunu göstermiştir. Yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında çalışmamızda olduğu gibi bakterilerin bitki uygulamaları öncesinde patojenite testleri yapılmamıştır. Ma et al. (2011) çalışmasında bakteri uygulamaları yapılarak canlılık indeksi testi yapılmıştır ancak patojenite değerlendirilmesi yapılmamıştır. Endofitik bakteri uygulaması stress durumunda kontrole göre canlılık indeksini artırmıştır. Elde edilen veriler, izole edilen endofitik bakterilerin kuraklık ve NP'lere karşı dirençli olduklarını, patojenite riski taşımayarak bitki gelişimini belirgin şekilde desteklediklerini göstermiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA



Şekil 4.4.Yonca bitkisine bakteri izolatlarının uygulamasının sonuçları

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.





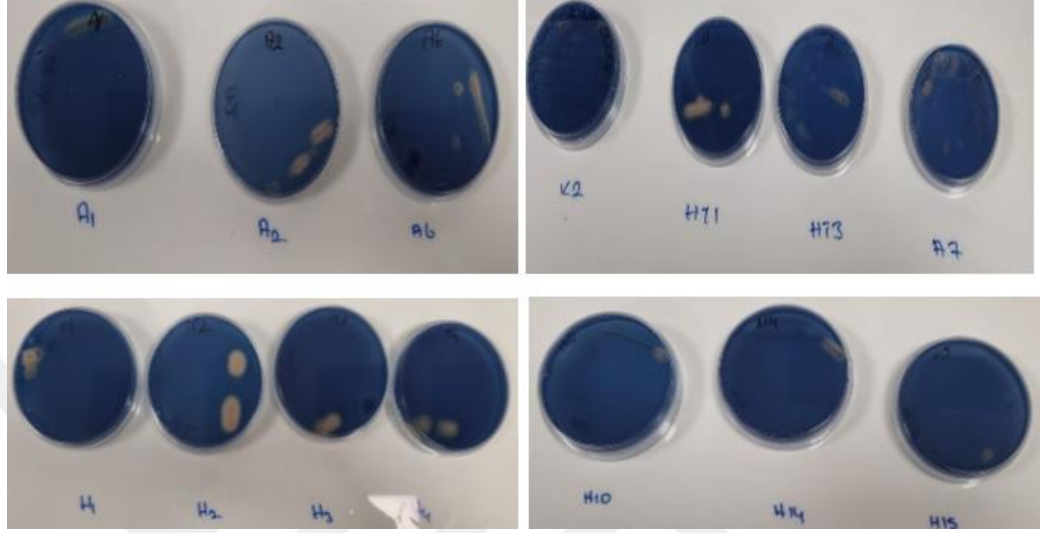
Şekil 4.5. Bakteri uygulamalarının yoncada patojenite sonuçları

4.6. Bakterilerin Fizyolojik, Biyokimyasal, Moleküler ve PGPB Özellikleri Açısından Değerlendirilmesi

Bakteri izolatlarının hücre duvarlarındaki farklılığına göre Gram (+) veya Gram (-) olup olmadıkları gram boyama testine alternatif olarak kullanılan KOH testiyle belirlenmiştir. A7, A8, H7, H9, H11, H12, H15, H16, H18, K1, K2, D1, D3, D4 ve HT3 bakterileri Gram (-) diğer bakteriler ise Gram (+) olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Gram (-) izolatların çoğunluğu *O.ficus-indica*, Gram (+) olanlar ise *A. americana* bitkisinden izole edilmiştir. Kuraklığa uyumlu bu iki konak bitkinin endofit florasında yapısal farklılıklar olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda da gram boyama testine alternatif olarak kullanılan KOH testi uygulanmıştır. Gram boyama testinin sonuçları, literatürde yüksek doğruluk oranlarıyla desteklenen KOH testi ile de karşılaştırılmıştır. Dash and Payyappilli (2016) çalışmasında Gram negatif bakterilerde %98,85 ve Gram pozitiflerde ise %100 doğruluk gözlemlenmiştir. Hardiansyah et al. (2020) çalışmasında KOH testinin sonuçları yüksek korelasyon göstererek hızlı tanılamada alternatif olarak yer almıştır. Çalışmamızın sonuçları da literatür verileriyle uyumlu olarak görülmüştür, hızlı tanılamamanın gerekli olduğu durumlarda da alternatif bir yöntem olarak KOH testinin değerlendirilebileceğini göstermiştir.

Bakteri izolatlarının siderofor üretimlerini kalitatif olarak belirlemek için CAS agar besiyerine ekim yapılmıştır. Mavi olan besiyerinde sarımsı-turuncumsu zonlar oluşturan A1, A2, A6, A7, H1, H2, H3, H4, H10, H14, H15, K2, HT1 ve HT3 bakteri izolatları pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.6, Çizelge 4.1). Siderofor üretimi sayesinde demirin sınırlı olduğu topraklarda da şelasyon sayesinde alımını kolaylaştırarak bitki gelişimine fayda sağlamaktadır. Bu sayede bitki-rizosfer ilişkilerinde, demir eksikliğinin yaşandığı topraklarda, bitki gelişimininde avantajlar sağlar (Lozano-González et al. 2023). Farklı çalışmalarda endofitik bakterilerin değerlendirilmesinde siderofor üretimini gösteren benzer kalitatif yöntem kullanılmıştır. Shah et al. (2021) çalışmasında farklı buğday (*T. aestivum L.*) tohumlarından izole edilen 5 bakteri siderofor üretimi açısından değerlendirilmiştir 2 bakteride siderofor üretimi gözlemlenmiştir. Li et al. (2023) çalışmasında kadmiyumla kontamine olmuş toprakta yetiştirilen beyaz meşe (*Quercus glauca*), kızılgağaç (*Alnus cremastogyne*), kırmızı sarmaşık (*Spatholobus suberectus*), Hint açelyası (*Rhododendron simsii*), çizgili

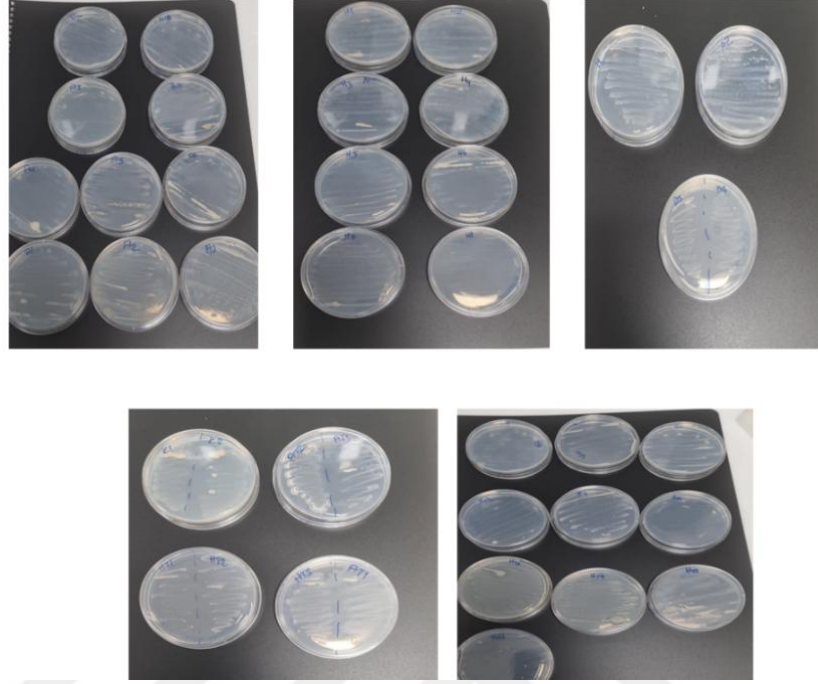
çam (*Pinus elliottii*) ve masson çamı (*Pinus massoniana*) gibi bitkilerden izole edilen 21 endofitik bakteriden 7 tanesinde siderofor üretimi gözlemlenmiştir. Literatür verileriyle çalışmada elde edilen veriler karşılaştırıldığında, bazı bakteri izolatlarının siderofor üretme kapasitesine sahip olabileceği gösterilmiştir.



Şekil 4.6. Bakteri izolatlarının siderofor üretim potansiyelleri

Bakteri izolatlarının azot fiksasyonu yapıp yapmadıklarını belirlemek için azotsuz besiyeri (N free besiyeri) kullanılmıştır. Azotsuz ortamda gelişim gösteremeyen H16, H21 dışındaki tüm bakteri izolatları azot fiksasyonu açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.7, Çizelge 4.1). Bu sonuçlar, izolatların diazotrofik (azot bağlayıcı) özellik taşıyabileceğine göstermiştir. Yapılan diğer çalışmalarda azotsuz ortamda bakteri gelişimi benzer şekilde gözlemlenmiştir. Etminani and Harighi (2018) çalışmasında yabani Antep fıstığı ağaçlarından izole edilen ve tanılaması yapılmış olan *Pseudomonas*, *Pantoea* ve *Serratia* cinsine ait birkaç suş, azotsuz ortamda iyi büyüebilmiş ve bu suşların diazotrofik yapıda olabileceği hipotezini desteklenmiştir. Zhang et al. (2022) çalışmasında yedi *Manibot esculenta* Crantz çeşidinin köklerinden 10 endofitik bakteri izole edilmiştir. Azotsuz besiyerisinde gelişen A02 suşunun nitrojenaz aktivitesine sahip olan *Curtobacterium* olarak doğrulanmıştır. Elde edilen veriler, azotsuz ortamda gelişim gösterebilen endofitik bakterilerin tarımda biyolojik azot kaynağı olarak önemini göstermektedir. Bu özellik azot gübresi kullanımının kısıtlı olması veya sürdürülebilir tarımın uygulanmak istendiği, yonca gibi yem bitkilerinin büyüme ve verimliliğini artıracak potansiyele sahiptir. Çalışmamız hem izolatların

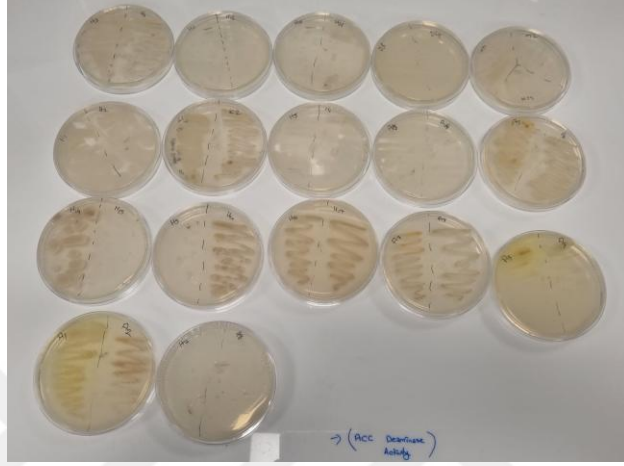
diazotrofik potansiyelini ortaya koymuş hem de bu sayede ekosistem düzeyinde ve tarımsal uygulamalarda nasıl değerlendirilebileceğini göstermiştir.



Şekil 4.7. Bakteri izolatlarının azot fiksasyonu potansiyelleri

Bakteri izolatlarının ACC deaminaz aktivitesi DF besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. H18 bakteri izolatı dışındaki tüm bakteri izolatları (%97,5) büyüme göstermiştir ve ACC deaminaz aktivitesi açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 4.8, Çizelge 4.1). Bu sonuçlar doğrultusunda izolatların büyük kısmının stres koşullarında bitki büyümesini destekleyici potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. ACC deaminaz enzimi, stres altında bitkinin salgıladığı etilen öncüsü olan ACC'yi parçalayarak, etilen seviyesinin yükselmesini önlemektedir. Böylece bitki gelişimi baskılanmamış olur ve kök uzaması gibi süreçler artar. Bu özellik bir bakterinin PGPB olarak değerlendirilmesinde önemli bir kriterdir (Glick 2014). Yapılan farklı çalışmalarda benzer yöntem kullanılarak PGBP özellikleri test edilmiştir. Sofy et al. (2021) çalışmasında tuz stresine karşı *B. subtilis* ve *P. fluorescens* bakterilerinin ACC deaminaz aktivitesi özelliğine bakılmış ve pozitif olarak değerlendirilmiştir. Choudhury et al. (2023) çalışmasında yine yani ACC deaminaz üreten bakteri uygulamasının tuz kaynaklı apoptozu nasıl hafifletebileceği ve pirinçte yaşlanmayı nasıl geciktirebileceği araştırılırken ACC deaminaz aktivitesine bakılmıştır. H18 izolatının negatif sonuç vermesi, izolatlar arasında gözlenen bu yaygın özelliğin istisnai varyasyon olabileceğini

göstermiştir. Bu bulgu, endofitik bakteri toplulukları içinde fonksiyonel çeşitliliğin olduğunu, bazı suşların da alternatif veya tamamlayıcı PGPB mekanizmalarına sahip olabildiğini göstermiştir. Çalışmada pozitif olarak değerlendirilen bakteriyel izolatların bitki stres durumunda olumlu yönde etkileyebilecek potansiyellerinin bulunduğu ise literatür verileriyle de desteklenmiştir.

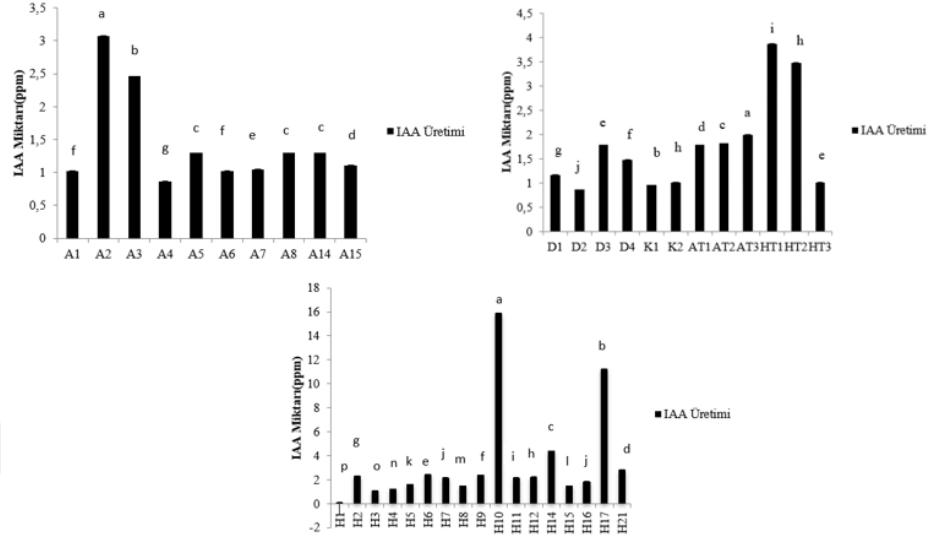


Şekil 4.8. Bakteri izolatlarının ACC Deaminaz aktiviteleri

Bakteri izolatlarının IAA hormonu üretilip üretilmediği belirlenmiş, A2, A3, A5, H7, H9, H10, H11, H12, H14, H15, H16, H17, H18, H21, AT1, AT2, AT3, HT1 ve HT2 izolatları pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Saf IAA kullanılarak standart grafik oluşturulmuş ve IAA miktarları belirlenmiştir. A2, A3, AT3, HT1, H10 ve H17 izolatlarında diğer izolatlara göre daha yüksek IAA üretimi gözlemlenmiştir (Şekil 4.9). Bu sonuçlara göre izolatlar bitki gelişimini teşvik etme potansiyeline sahip olarak değerlendirilmiştir. IAA üretimi için ortamda triptofan bulunması gerekmekte ve çalışmamızda triptofan varlığında üretim, izolatların fitohormon sentezleme yeteneklerini değerlendirmede önemli bir kriter olmuştur. Yapılan çalışmalarda triptofan kullanılarak IAA sentezini yapan bakteriler fitohormon üretimi açısından değerlendirilmiştir. Vimal, et al. (2023) çalışmasında farklı tuz konsantrasyonlarına toleranslı endofitik bakteriler izole edilmiş SSA4 *B. subtilis* suşu, 1100 mM NaCl'de büyüme göstermiş ve IAA ürettiği için en güçlü bakteriyel endofit olarak kabul edilmiştir. Bu bulgu, abiyotik stres şartlarında IAA üretimini bakterilerin gerçekleştirdiği ortak bir adaptasyon süreci olduğunu düşündürmüştür. Çalışmamızdaki bakteri izolatlarının kuraklık stresindeki bitkilerden elde edilmesi, yüksek IAA üretiminin yalnızca bitki büyümesini desteklemekle kalmayıp ayrıca kuraklığa adaptasyon

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

sürecindeki rolünü de göstermiştir. Yüksek IAA üretimi olan A2, A3, AT3, HT1, H10 ve H17 izolatları, yonca bitkisinde stres koşullarında kök gelişimi ve büyümesini destekleyerek bitkinin adaptasyonu artırabilecek potansiyel biyolojik ajanlar olabilir.



Şekil 4.9. Bakteri izolatlarının IAA üretim potansiyelleri

Veriler ortalama $\pm$ SE ($n = 3$) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

Bakteri izolatlarının büyük çoğunluğunda katalaz ve oksidaz enzim aktivitelerinin pozitif olduğu belirlenmiştir. Katalaz aktivitesi, D1 ve D2 izolatlarında negatifken, diğer tüm izolatlarda pozitif olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Sonuçlar izolatların oksidatif stres durumunda savunma mekanizmalarına sahip olduğunu göstermiş ve çevresel koşullarda hayatta kalma potansiyeli yüksektir olarak değerlendirilmektedir. Oksidaz aktivitesi ise A4, A5, A6, A7, H6, H7, H8, H9, H17, H21, K1, K2, AT3 ve HT1 izolatları dışında kalan tüm bakterilerde pozitif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.1). Sonuçlara göre izole edilen bakterilerin büyük çoğunluğu oksijenli solunum yapabilen, çevresel stres faktörlerine direnç gösteren ve potansiyel olarak bitki büyümesini destekleyen biyolojik ajanlar olarak değerlendirilebilir. Yapılan diğer çalışmalarda Kumari et al. (2023) çalışmasında *Salvadora oleoides* köklerinden endofitik bakteriler izole edilmiş ve biyokimyasal çalışmalar arasında katalaz testi de yer almıştır. Sonuçlara göre çoğu izolat katalaz pozitif çıkmış olup, bu durum bakterilerin çevresel stres toleransının yüksek olduğunu göstermiştir. Lata et al. (2024) *Feather grass (Chloris virgata)* bitkisi kullanılarak 43

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

endofitik bakteri izole edilmiştir. Çalışmamızdaki bakteri izolatları katalaz ve oksidaz aktiviteleri, literatürle uyum göstermiştir ve PGPB olarak tarımsal uygulamalarda kullanılma potansiyeli ortaya koyulmuştur. Kapsamlı şekilde yapılan biyokimyasal karakterizasyon çalışmasında katalaz ve oksidaz testleri yer alarak hem oksidatif stres toleransı hem de aerobik metabolik kapasiteyi birlikte taşıyan izolatlar görülmüştür. Bu sonuçlar doğrultusunda bakteri izolatları bitki-mikroorganizma simbiyoz ilişkisinde etkili ve güvenilir biyoteknolojik ajanlar olarak öne çıkmıştır.

Çizelge 4.1. Bakteri İzolatlarının patojenite ve PGBP özellikleri açısından değerlendirilmesi

İzolasyon Kodu	Yonca Patojenitesi	Gram +/-	Katalaz	Oksidaz	Azot Fiksasyonu	IAA Üretimi	ACC Deaminaz Aktivitesi	Siderofor Üretimi
A1	-	+	+	+	+	-	+	+
A2	-	+	+	+	+	+	+	+
A3	-	+	+	+	+	+	+	-
A4	-	+	+	-	+	-	+	-
A5	+	+	+	-	+	+	+	-
A6	-	+	+	-	+	-	+	+
A7	+	-	+	-	+	-	+	+
A8	-	-	+	+	+	-	+	-
A14	-	+	+	+	+	-	+	-
A15	+	+	+	+	+	-	+	-
H1	-	+	+	+	+	-	+	+
H2	+	+	+	+	+	-	+	+
H3	-	+	+	+	+	-	+	+
H4	-	+	+	+	+	-	+	+
H5	-	+	+	+	+	-	+	-
H6	+	+	+	-	+	-	+	-
H7	-	-	+	-	+	+	+	-
H8	+	+	+	-	+	-	+	-
H9	-	-	+	-	+	+	+	-
H10	-	+	+	+	+	+	+	+
H11	-	-	+	+	+	+	+	-
H12	-	-	+	+	+	+	+	-

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

H14	+	+	+	+	+	+	+	+
H15	-	-	+	+	+	+	+	+
H16	-	-	+	+	-	+	+	-
H17	+	+	+	-	+	+	+	-
H18	-	-	+	+	+	+	-	-
H21	+	+	+	-	-	+	+	-
K1	-	-	+	-	+	-	+	-
K2	-	-	+	-	+	-	+	+
D1	-	-	-	+	+	-	+	-
D2	-	+	-	+	+	-	+	-
D3	-	-	+	+	+	-	+	-
D4	+	-	+	+	+	-	+	-
AT1	-	+	+	+	+	+	+	-
AT2	-	+	+	+	+	+	+	-
AT3	-	+	+	-	+	+	+	-
HT1	-	+	+	-	+	+	+	+
HT2	-	+	+	+	+	+	+	-
HT3	-	-	+	+	+	-	+	+

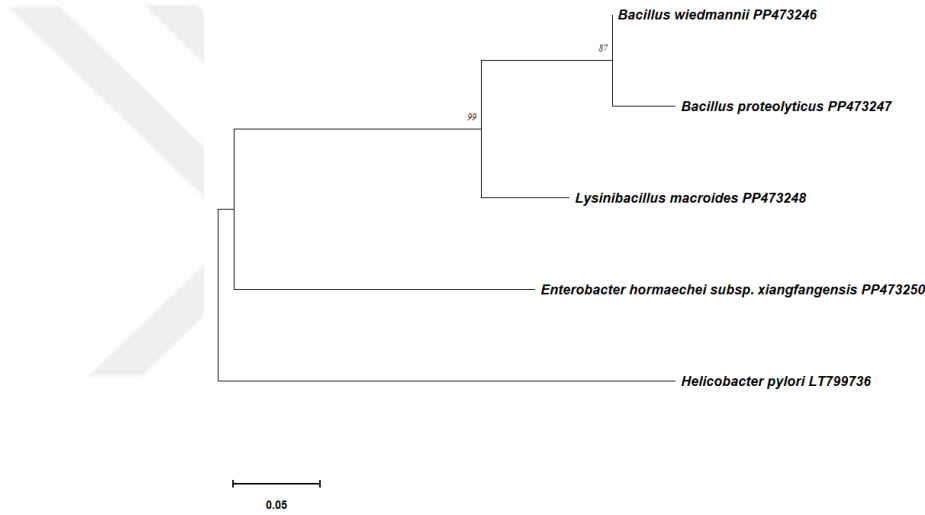
Bakteri izolatlarından, kuraklık stresi toleransı ve PGPB özelliklerinin kapsamlı değerlendirilmesi sonucunda, A2, AT3, HT1 ve HT17 izolatları seçilmiştir. Bu seçim, izolatların çoklu parametreleri (patojen olup olmadığı, IAA üretimi, siderofor üretimi, azot fiksasyonu, ACC deaminaz aktivitesi, katalaz ve oksidaz aktiviteleri) dikkate alınarak yapılmıştır. Seçilen 4 bakteri izolatı dizi analizine göre tür seviyesinde teşhis edilmiştir. Bakteri izolatlarının 16S rRNA gen bölgesine ait sekans analizleri BioEdit programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Simsek Geyik et al. 2024). GenBank veritabanında bulunan referans dizilerle karşılaştırılmış ve tür seviyesinde tanımlama yapılmıştır. Filogenetik ağaç çiziminde ise MEGA yazılımındaki ClustalW algoritması ile hizalama yapılmış ve Neighbour-Joining yöntemi kullanılmıştır (Şekil 4.10). Her izolat için GenBank numaraları alınmıştır (Çizelge 4.2). Bu yöntem izolatların genetik çeşitliliğinin ortaya çıkarılması ve tür seviyesinde tanımlanması açısından güvenilir sonuçlar sağlamıştır. Benzer şekilde, Wang et al. (2025) çalışmasında *Sphagnum palustre*'deki endofitik bakteri J11 izole edilmiştir. 16s rRNA gen bölgesine ait diziler Gen Bankasındaki dizilerle kıyaslanmış, *B. cereus* olarak tanımlanmıştır. Mega programı kullanılarak filogenetik ağaç çıkarılmıştır. Her iki çalışmada kullanılan

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

moleküler tanımlama, endofitik bakterilerin taksonomik sınıflandırılmasında güvenilir bir yöntem olarak öne çıkmıştır.

Çizelge 4.2. Bakteri izolatlarının moleküler tanılanması

İzolat kodu	Bakteri Türü	GenBank Numarası
A2	<i>Bacillus wiedmannii</i>	PP473246
AT3	<i>Bacillus proteolyticus</i>	PP473247
HT1	<i>Lysinibacillus macroides</i>	PP473248
H17	<i>Enterobacter hormaechei</i> subsp. <i>Xiangfangensis</i>	PP473250



Şekil 4.10. Bakteri İzolatları filogenetik ağacı

4.7.Yoncada Kuraklık Sağlayacak PEG-6000 Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi

In vitro şartlarda PEG uygulanarak farklı ozmotik stres seviyelerinin etkisini görmek amacıyla bitki gelişimi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Murashige ve Skoog (1962) temel besiyeri %0, %5, %10, %15, %20 ve %25 PEG içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bitki kök-gövde büyümesi ve kuru ağırlığı bulgularına göre, bitki büyümesini %50 ve %75 oranında inhibe eden %10, %20 PEG konsantrasyonu seçilmiştir (Şekil 4.11). PEG, ortamın su potansiyelini düşürerek kuraklık stresini taklit etmektedir. PEG konsantrasyonu arttıkça ortamın ozmotik potansiyeli daha negatif hale gelmekte ve bitkinin su alımı zorlaşmaktadır. Kızılgöçü et al. (2017) çalışmasında farklı

buğday genotiplerindeki tohum çimlenme oranı ve fide canlılığı PEG kullanılarak oluşturulan farklı osmotik potansiyellerde (-0,3 -0,6, -0,9, -1,2 MPa) değerlendirilmiştir. Şiddetli osmotik stres durumunda çimlenme ve fide canlılığında azalma gözlemlenmiştir. Poggi et al. (2023) çalışmasında *Triticum durum* Desf. PEG (%5–%20) ile yapılan deneylerde, %15 üzeri konsantrasyonda kök ve sürgün büyümesinde önemli gerileme analiz edilmiştir. Çalışmamızdaki bitki büyümesini %50 ve %75 oranında inhibe eden %10 ve %20 PEG konsantrasyonları literatürle uyumlu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, konsantrasyonların sırasıyla orta ve şiddetli kuraklığı taklit ederek yoncada geçerli ve güvenilir değerlendirme dozları olduğunu göstermiştir.

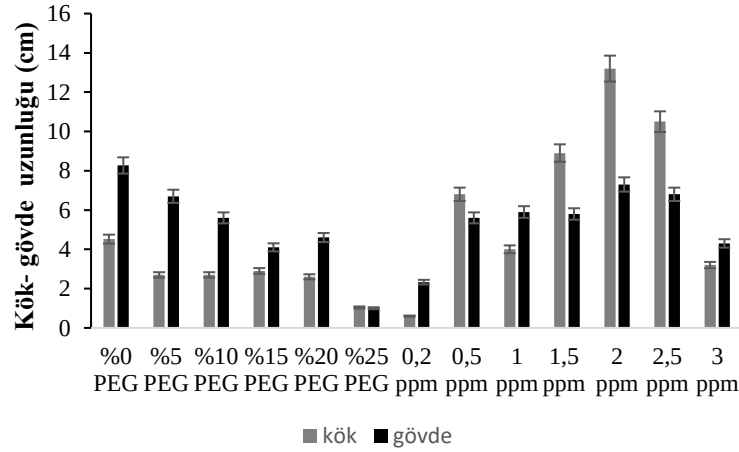


Şekil 4.11. Yonca bitkisini %50, % 75 oranında inhibe eden PEG konsantrasyonunun belirlenmesi

4.8.Yoncada SiO₂ NP Konsantrasyonlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, farklı dozlarda (0,2 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5 ve 3 ppm) SiO₂ NP'leri yoncaya uygulanmış büyüme ve gelişmesi üzerindeki etkileri gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, SiO₂ NP'nin düşük ve orta dozları bitki büyümesini desteklediğini, yüksek dozların (≥ 3 ppm) ise olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Özellikle 2 ppm uygulamasında kök uzunluğu $12,5 \pm 0,3$ cm, gövde uzunluğu $7,5 \pm 0,2$ cm, bu değerler kontrol grubuna kıyasla sırasıyla %47 ve %36 daha yüksektir. 2,5 ppm uygulamasında ise kök uzunluğu $11 \pm 0,4$ cm, gövde uzunluğu $7 \pm 0,3$ cm ölçülmüş kontrol grubuna göre sırasıyla %29 ve %27 artış sağlamıştır (Şekil 4.12). Daler et al. (2024) çalışmasında stresteki asma fidanlarında SiO₂ NP'lerinin (0, 10, 100 ppm) morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Özellikle 10 ppm uygulamasında yaprak RWC, klorofil düzeyi, büyüme ve antioksidan

savunması artmış kuraklığa direnci artırmıştır. Yüksek dozda olumsuz etkilere yol açtığını göstermiştir. Her iki çalışmaya da bakıldığında hem yonca hem de asma gibi farklı bitkilerde SiO₂ NP'lerinin düşük ve orta seviyelerde kullanılması büyümeyi, su dengesini ve antioksidan savunma mekanizmalarını desteklemiş, yüksek seviyelerde ise toksik etki yapabileceği sonucuna varılmıştır.



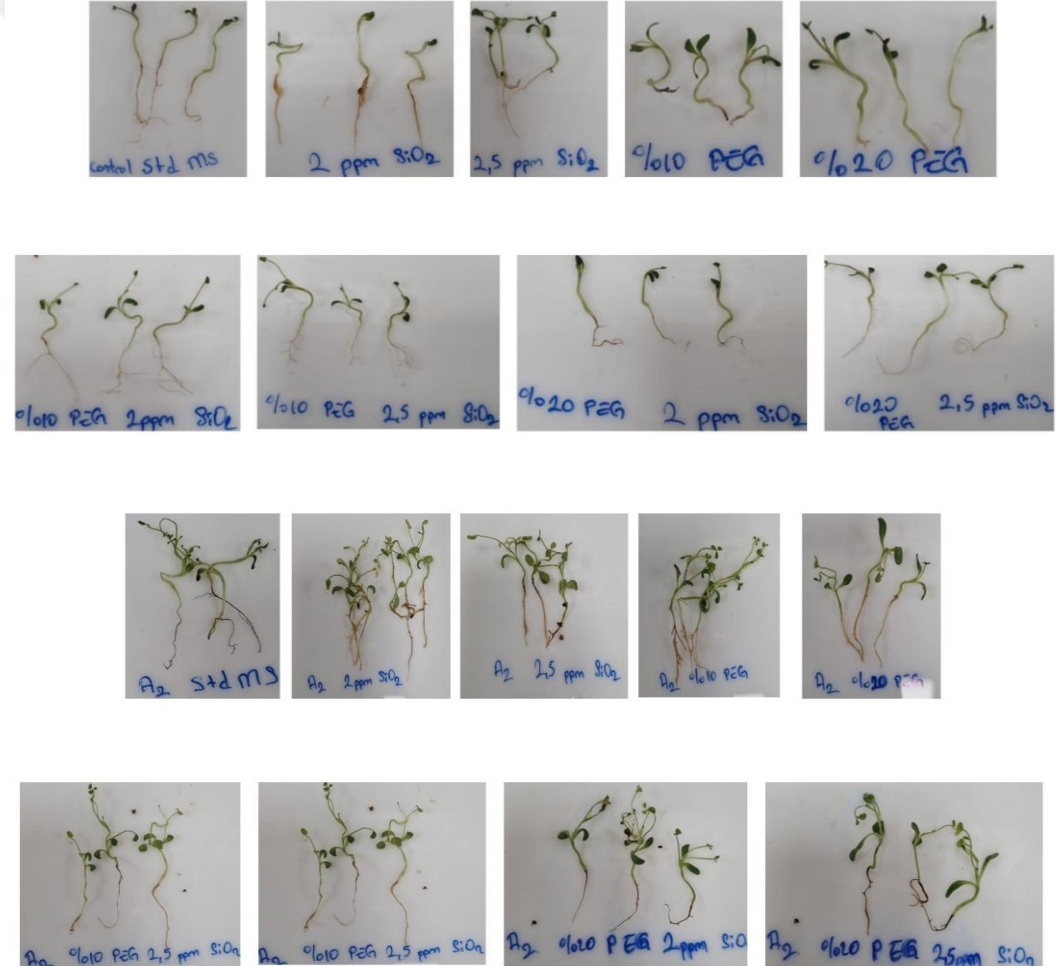
Şekil 4.12. *In vitro* PEG ve SiO₂ doz belirlenmesi

4.9.Yoncada SiO₂ NP'leri ve Bakterilerin Birlikte Uygulamasının Değerlendirilmesi

In vitro denemeler için seçilen A2, HT1, AT3 ve H17 bakteri izolatları yonca tohumlarının çimlenme ve gelişme ortamlarına ilave edilmiş ve aynı ortamda bu dört farklı bakteri izolatı ile SiO₂ NP %10–20 PEG ile indüklenen kuraklık koşulları altındaki etkileri araştırılmıştır. Uygulamalar *in vitro* için aşağıdaki şekilde yapılmıştır. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmamış ve doğrudan yonca tohumları MS ortamına ekilmiştir. Diğer uygulamalarda %10 PEG, %10 PEG + 2 ppm SiO₂, %10 PEG + 2,5 SiO₂, %20 PEG, %20 PEG + 2 ppm SiO₂, %20 PEG + 2,5 SiO₂. Her bakteriyle muamele edilen yonca tohumları da bu konsantrasyonlara ekim yapılmıştır (Şekil 4.13). Örnekler toplanmış ve diğer deneylerin yapım aşamasına kadar (yaprak canlılık testi hariç) -80 °C'de bekletilmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda da farklı dozlarda NP ve endofitik bakterilerin etkileri araştırılmıştır. Kamyab et al. (2024) çalışmasında *Thymus vulgaris*'te kuraklık toleransını artırmak için FeNP (0, 0,5, 1 ve 1,5 ppm), endofitik bakteriler ve endofitik mantarların kombinasyonu uygulanmıştır. Bu kombine uygulama

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

bitkinin kuraklık stres toleransını artırmış büyüme, antioksidan savunma, fenolik/flavonoid üretimi ve uçucu yağ kalitesi gibi birçok mekanizmayı etkilemiştir. Yüksek dozdaki FeNP'lerinin ise zararlı olabileceği görülmüştür. Jui et al. (2025) tarafından yapılan çalışmada ise soya fasulyesi üzerinde *Brevibacterium sediminis* bakterisi ile TiO₂ NP'lerinin (200–400 ppm) tekli ve kombinasyonları uygulanmıştır. *B. sediminis* kullanılarak tohum astarlamasıyla birlikte 400 ppm TiO₂ NP'lerinin yaprak uygulamasının kuraklık koşulları altında soya fasulyesi verimliliğini önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Literatürdeki bu çalışmalar karşılaştırıldığında uygun dozlarda uygulanan NP'lerin ve bitki büyümesini teşvik eden mikroorganizmalar sinerjik etki edebileceği, bitkilerin kuraklık stresine karşı toleransını artırabileceği görülmüştür.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

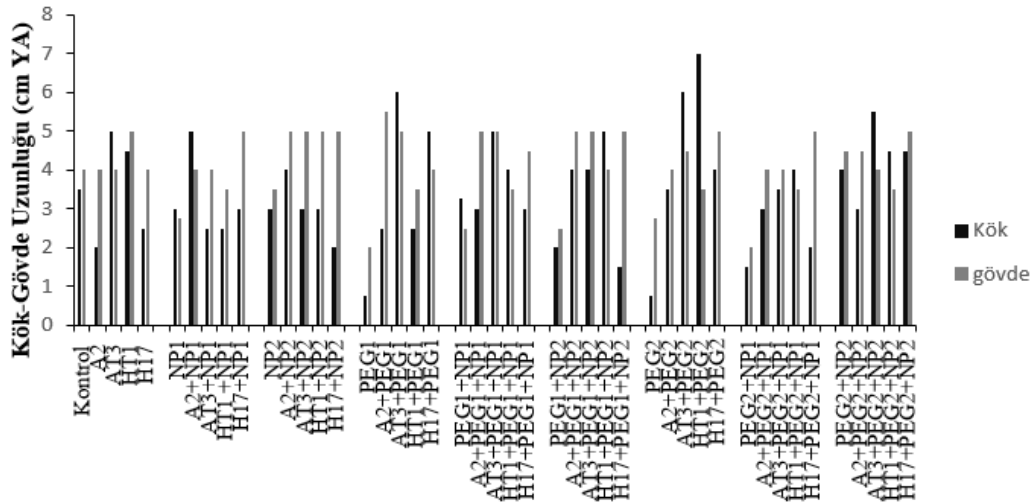


Şekil 4.13. Bakteri ve SiO₂ yonca uygulamaları

4.10.Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

Uygulamaların yapıldığı örneklerinden kök-gövde uzunluğu ölçülmüş sonuçlar grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.14). PEG stresinde büyüme azalırken, tüm bakteri

uygulamaları bu olumsuz etkiyi hafifletmiş ve büyümeyi artırmıştır. SiO₂ NP'leri ise bakterilere kıyasla daha düşük bir etkisi olsa da yine de pozitif katkıda bulunmuştur. Kök uzunluğu 0,75 ile 7 cm arasında, gövde uzunluğu ise 2 ile 5,5 cm arasında değişiklik göstermiştir. Kök uzunluğunda en yüksek değer %20 PEG stresinde uygulaması yapılmış olan HT1 izolatında, en düşük değer ise %10 ve %20 PEG uygulamasının yapılmış olduğu kontrol grubunda gözlemlenmiştir. Gövde uzunluğunda en yüksek değer %10 PEG stresinde uygulama yapılmış olan A2 izolatında, en düşük değer ise %10 PEG, %20 PEG + 2 ppm SiO₂ uygulanmasının yapılmış olduğu kontrol grubunda gözlemlenmiştir. Deng et al. (2013) çalışmasında *Paenibacillus polymyxa* izolatının domates bitkisinin boyunda artış sağlandığı gözlemlenmiştir. Telek vd. (2019) çalışmasında ise rizobakterilerin bitki boyu, sürgün kuru ve yaş ağırlığı özellikleri üzerine geliştirici etkisi olduğu gösterilmiştir. Şelem vd. (2021) çalışmasında Aynısafa (*Calendula officinalis* L.) bitkisinin kuraklık uygulamalarında bakteri uygulanan gruplarda büyüme ve gelişmede artış görülmüştür. HT1 izolatının kök gelişiminde, A2 izolatının gövde gelişiminde öne çıkması IAA üretimi, siderofor üretimi, azot fiksasyonu gibi PGPB özellikler ve güçlü osmotik stres toleransı ile uyumuştur. Literatür verileriyle uyumlu olarak kuraklık stresinde bitkilerin büyüme gelişiminde azalma olurken bakteri uygulamalarıyla bitki büyüme gelişiminde artış olduğu görülmüştür.

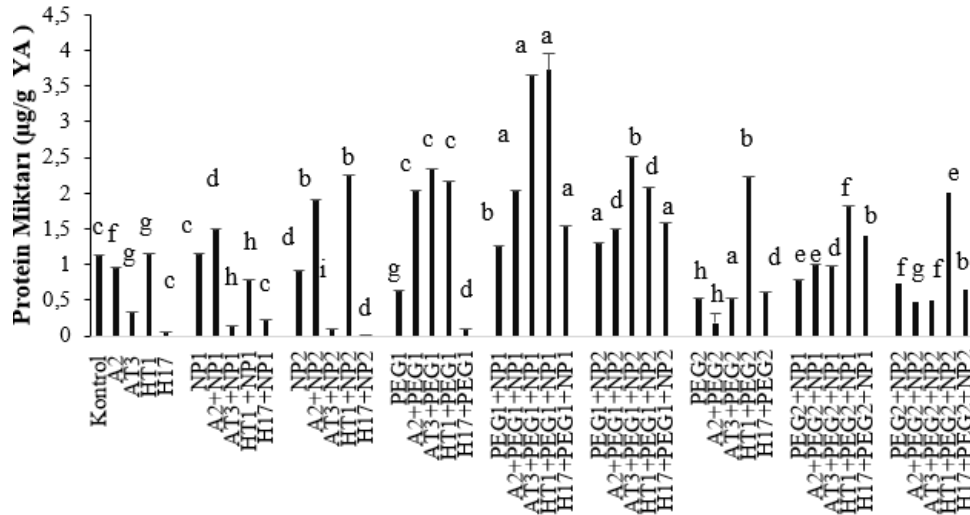


Şekil 4.14. Bakteri ve SiO₂ uygulamalarının kök gövde uzunluğu üzerine etkileri

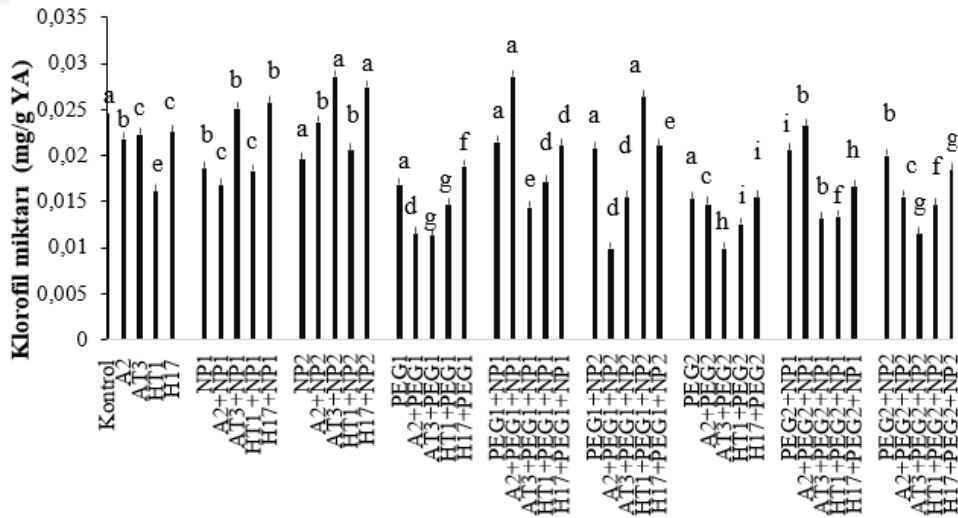
Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Çalışmamızda aynı gruplara ait bitki örneklerinde toplam protein miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.15). Protein miktarı 0,009028 ile 3,723744 µg/g arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek değer %10 PEG + 2 ppm SiO₂ koşullarında HT1 izolatının uygulandığı grupta, en düşük değer ise H17 + 2,5 ppm SiO₂ uygulamasında gözlemlenmiştir. Yonca bitkisinde protein sentezi endofitlik bakterilerle desteklenmiş, kuraklık stresinin olumsuz etkileri azaltılmıştır. SiO₂ NP ise bakterilerle sinerjistik etki göstererek artış sağlamış, tek başına bakteriler kadar etkili olmamıştır. Çalışmada endofit uygulamasıyla artan protein miktarı endofitik bakterilerle NP'lerin bitki metabolizması üzerindeki pozitif etkilerini ortaya koymuştur. Protein artışı endofitlerin ürettiği fitohormonlarla ve stresi azaltmaya yardımcı enzimlerinden kaynaklabilmektedir. Yapılan farklı çalışmalarda da endofitik bakterilerin protein içeriğini artırdığı görülmüştür. Dubey et al. (2021) çalışmasında protein miktarı endofitik bakteri aşılınmış soya fasulyesi fidelerinde aşılınmamış kontrol fidelerine göre daha yüksek olarak ölçülmüştür. Khan et al. (2022) çalışmasında bakteri konsorsiyumunun uygulandığı keten tohumuyla yapılan çalışmada protein miktarı artmıştır. Literatür verileriyle uyumlu olarak, endofitik bakterilerin protein üretimini desteklediği doğrulanmıştır.



Bitki yapraklarından elde edilen örnekler kullanılarak klorofil içeriği belirlenmiştir. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.16). Klorofil miktarı 0,009847 ile 0,028578 mg/g arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek değer %10 PEG + 2 ppm SiO₂ koşullarında A2 izolatının uygulandığı grupta, en düşük değer ise %10 PEG + 2,5 ppm SiO₂ A2 izolatı uygulamasında gözlemlenmiştir. Sonuçlar, bakterilerin ve NP'lerin sinerjik etkisiyle fotosentezin desteklendiğini ve bitkinin kuraklık stresine daha dayanıklı hale geldiğini göstermiştir. Yapılan farklı çalışmalarda endofitik bakterilerin kontrol gruplarına göre klorofil içeriğini etkileyerek fotosentezi artırdığı görülmüştür. Kanwal et al. (2017) çalışmasında buğdayda kuraklık stresinde toplam klorofil içeriği, klorofil a ve klorofil b, PGPR ile kompost, mineral gübre ve bol su T14 kombinasyonunun aşılandığı bitkilerde artış göstermiştir Al-Amri (2021) çalışmasında fasulye bitkileri mikorizal mantarlar ve endofitik bakterilerle birlikte aşılanmış, bu uygulamaların yüksek oranda fotosentetik pigment içeriğine neden olduğunu açıkça gösterilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışmada H17 ve AT3 izolatlarıyla birlikte SiO₂ NP'lerinin uygulanması kuraklık stresi altında bitkilerin klorofil içeriğini artırarak fotosentezi desteklemiş ve bitkinin strese dayanıklılığını yükseltmiştir.



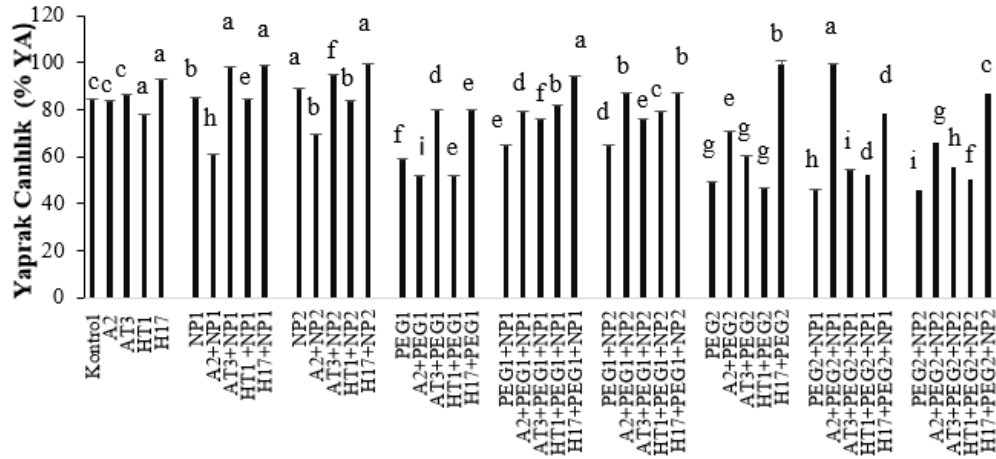
Şekil 4.16. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları total klorofil miktarı üzerine etkileri

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Bakteri, kuraklık stresi ve SiO₂ NP uygulamalarının yapıldığı örneklerden yaprak canlılık testi yapılmıştır. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak

gösterilmiştir (Şekil 4.17). Yaprak canlılığı %46 ile %99,4579 arasında değişiklik göstermiştir. En yüksek değer H17 + 2 ppm SiO₂ uygulandığı grupta, en düşük değer ise %10 PEG + 2 ppm SiO₂ kontrol grubunda gözlemlenmiştir. Kontrol bitkisinin kuraklık şartlarından tüm uygulamalarında yaprak sızıntısıyla değerlendirilmiş ve membran bütünlüğünün bozulduğu stresin endofit ve NP uygulamalarıyla hafiflediği görülmüştür. Farklı çalışmalarda kuraklık ve tuzluluk stres koşullarına karşı endofitik bakteriler uygulanmış ve benzer yöntem kullanılarak elektrolit sızıntısı açısından değerlendirilmiştir. Aslam et al. (2018) çalışmasında kuraklığa dayanıklı endofitik bakterilerin su eksikliği koşulları altında buğday bitkisinde elektrolit sızıntısında önemli bir azalma olmuştur. Maksimum elektrolit sızıntısı kontrolde gözlenirken, minimum şiddetli su eksikliği stresinde aşılanmış bitkilerde gözlenmiştir. Kumar et al. (2018) çalışmasında domates bitkilerinde kuraklık ve tuzluluk stresini hafifletmede endofitik bakteri suşları olan *B. subtilis* ve *Pseudomonas* sp.'nin iki suşu uygulanmıştır. Endofitik bakteri aşılmasının iyileştirici etkileri, artan su potansiyeli ve azalan elektrolitik sızıntı ile de kanıtlanmıştır. Sonuç olarak literatür verileriyle de paralellik gösteren bu çalışmada H17 izolatu başta olmak üzere uygulanan endofitik bakterilerin yaprak canlılığını artırmış membran stabilitesini korumuş ve kuraklık stresini hafifletmiştir.

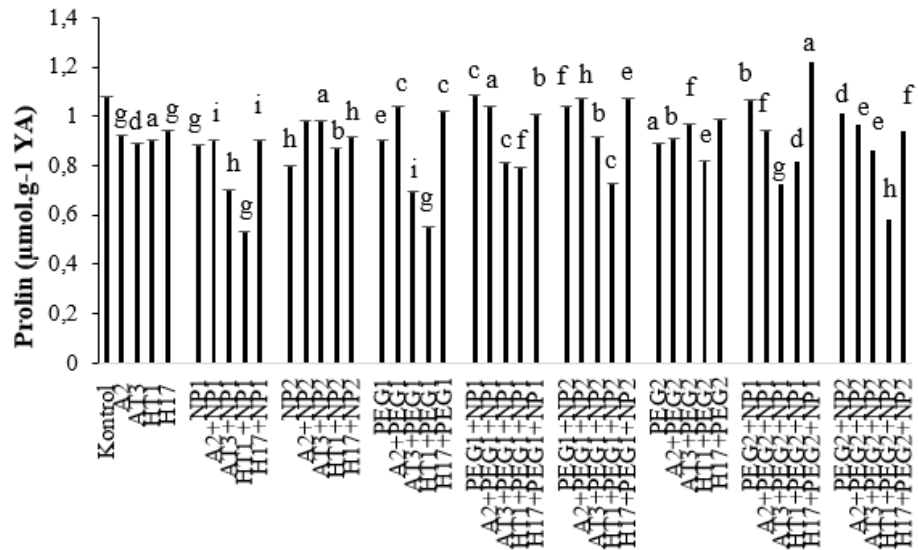


Şekil 4.17. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları yaprak canlılığı üzerine etkileri

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Çalışmamızda kuraklık stresine karşı bitkinin fizyolojik yanıtını değerlendirmek amacıyla; bakteri, SiO₂ NP ve kuraklık uygulamaları yapılan bitki örneklerinde, osmotik düzenleyici bir amino asit olan prolinin birikimi ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.18). Prolin miktarı 0,532982 ile 1,221982 µmol/g arasında değişiklik göstermiştir. Kontrol bitkisine kıyasla prolin içeriklerinde belirgin bir artış görülmemiştir, en düşük değer HT1+2 ppm SiO₂ NP uygulamasında, en yüksek değer ise H17 %20 PEG 2 ppm SiO₂ konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. Farklı çalışmalarda kuraklık stresinde endofitik bakteri uygulamalarının olduğu bitkilerdeki prolin içeriğinin arttığı gözlemlenmiştir. Meenakshi et al. (2019) çalışmasında farklı PEG konsantrasyonlarında dört yayla pirinç kökünden elde edilen 14 bakteriden 3 bakteri seçilerek buğdaya uygulanmıştır. Buğdayda kuraklık stresinde prolin içeriğindeki artış, tüm uygulamalardan bağımsız olarak kuraklık stresi koşullarında gözlemlenmiştir. Ayrıca, kontrole kıyasla MKA3 endofitik bakteri uygulamasında prolin miktarında artış görülmüştür. Chen et al. (2025) *Urtica cannabina*'nın farklı kuraklık stresi dereceleri altında endofitik bakteriler uygulanmıştır. Hafif kuraklık stresi altında ısırgan otundaki kuraklık hasarının prolin birikimi artmıştır. Çalışmamızda HT1 + 2 ppm SiO₂ NP grubunda prolin seviyesi düşük çıkmış olsa da bu uygulama stres toleransını farklı mekanizmalarla sağladığını düşündürmüştür. Prolin artışı genellikle stres şiddetine ve süresine bağlı olarak değişir ve bazı durumlarda bitki alternatif stres adaptasyon yollarını (antioksidan enzim sistemlerinin aktive edilmesi, su tutma kapasitesinin artması gibi) etkin hale getirebilmektedir. Bu veriler prolinin tek başına stres toleransı için belirgin bir gösterge olmayabileceğini ve çoklu mekanizmaların etkili olduğu göstermiştir.



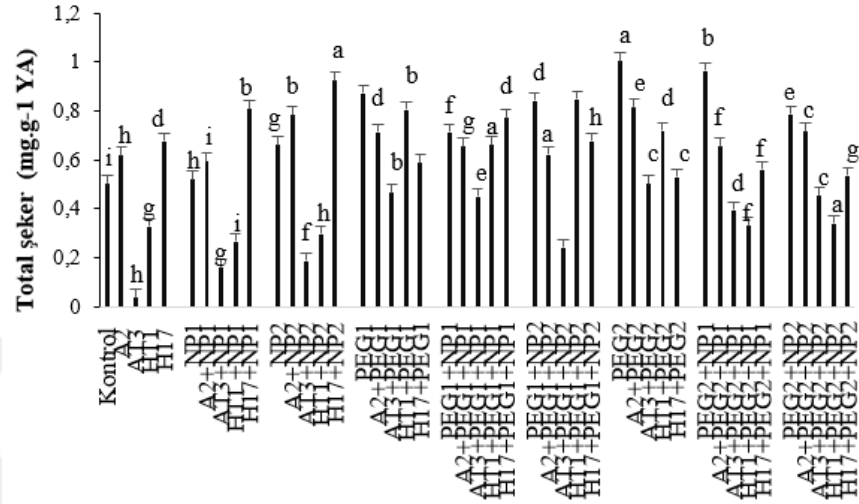
Şekil 4.18. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları prolin miktarı üzerine etkileri

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Bitkilerde enerji metabolizması ve stres toleransı ile ilişkili önemli bir parametre olan çözünebilir toplam karbonhidrat düzeyi; bakteri, kuraklık ve SiO₂ NP uygulamaları sonrası ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.19). Total şeker miktarı 0,037 ile 1,004 mg/g arasında değişiklik göstermiştir. Kontrol bitkisine kıyasla karbonhidrat içeriklerinde belirgin bir artış görülmemiştir, en düşük değer AT3 izolatu uygulamasında, en yüksek değer ise %20 PEG konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda endofitik bakterilerin uygulandığı Kohler et al. (2009) çalışmasında tuz stresinde rizobakterler ve mikorizal funguslar marul bitkisine tuz stresinde uygulanmış ve total şeker miktarında kontrol bitkisine göre azalma görülmüştür. Ilyas et al. (2020) çalışmasında buğdayda kuraklık stresinin iyileştirilmesinde kuraklık stresine dayanma yeteneklerine göre *B. subtilis* ve *A. brasilense* olmak üzere iki bakteri suşu uygulanmıştır. Bakteriyel suşlar buğdaydaki şeker konsantrasyonunu artırmıştır; *B. subtilis*, *A. brasilense* ve kombinasyon aşılamaalarında kontrole kıyasla artış gerçekleşmiştir. Literatür verilerindeki farklı sonuçlar neticesinde bakterilerin stres koşullarında bitki metabolizmasını farklı mekanizmalarla yönetebildiğini söyleyebiliriz. Bazı durumlarda bakteriler, osmotik düzenleyicilere ihtiyaç duymadan bitkide su dengesini ve antioksidan kapasitesini iyileştirerek stres toleransını artırırken, bazı durumlarda ise osmotik dengeyi şeker birikimini teşvik ederek yapmaktadır. Çalışmamızda da total

şeker miktarındaki değişimler sınırlı kalmıştır, sonuçlar bitkinin diğer adaptasyon mekanizmalarının devreye girdiğini veya bakteriyel suşların farklı yanıtlar verdiğini göstermiştir.



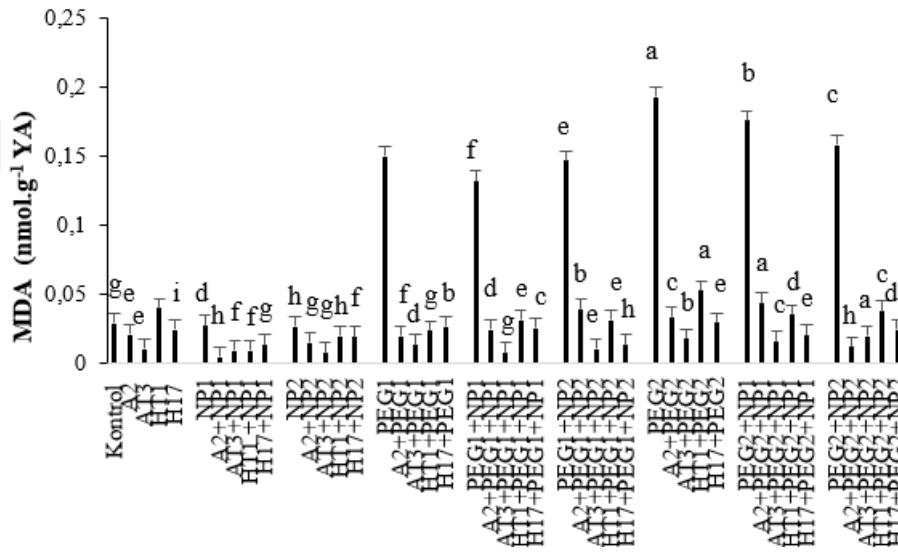
Şekil 4.19. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları total şeker miktarı üzerine etkileri

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Kuraklık stresi bitkilerde oksidatif stresin artmasına neden olur. Bu stres sonucunda bitki hücrelerinde ROS birikir. ROS yüksek seviyelerde üretildiğinde proteinler, DNA ve pigmentler gibi biyomoleküllere, özellikle de hücre zarlarına zarar verirler. Bu hasarın başlıca sonuçlarından biri hücre zarındaki LPO'dur. LPO, bozulmuş hücre bütünlüğünün ve oksidatif stresin şiddetinin bir göstergesidir. Çalışmamızda, uygulayacağımız kuraklığa dayanıklı endofitik bakterilerin ve SiO₂ NP'lerin birlikte uygulamasının bitkinin antioksidan sistemlerini aktive edeceğini öngörüyoruz. Bu nedenle, ROS ve LPO düzeylerini ölçmek, bu uygulamaların stres azaltıcı etkilerini doğrudan değerlendirmek için önemli bir göstergedir. Bakteri, kuraklık stresi ve SiO₂ NP uygulamalarının yapıldığı örneklerden MDA miktarı ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.20). Kontrol bitkisine kıyasla özellikle kuraklık stresinde tüm bakteri izolat uygulamaları, hücresel hasarın göstergesi olan MDA seviyesini azaltarak olumlu bir etki göstermiştir. MDA 0,003871 ile 0,192258065 nmol/gr arasında değişiklik göstermiştir. En düşük değer A2 + 2 ppm SiO₂ uygulamasında, en yüksek değer %20 PEG kuraklık stresinde gözlemlenmiştir. Yapılan

diğer çalışmalarda da endofitik uygulamaların bitkideki MDA seviyelerinde değişimin olduğu gösterilmiştir. Thanwisai et al. (2022) çalışmasında kadmiyum dirençli bir endofitik bakteri olan *Cupriavidus taiwanensis* pirinç fidelerine uygulanmış ve aşılannmamış fidelere göre Cd stresi altında daha düşük bir MDA seviyesi sergilemiştir. Bir diğer çalışmada Garipova et al. (2022) fasulyede (Zolotistaya, Ufimskaya, Elsa çeşitleri) endofitik *B. subtilis* ile aşılannmasının etkisi incelenmiştir. 7 ve 21 günlük bitkilerin MDA içerikleri değerlendirilmiş, aşılama sonrası MDA seviyesinin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda endofitik bakterilerin bitkilerde oksidatif stresi azaltarak membran bütünlüğünü korumada etkiliği olduğu ve stres durumunda lipid peroksidasyonu engelleyerek hücresel hasarı hafiflettiğini göstermektedir. Literatür verileriyle paralel olarak çalışmamızda da kuraklık stresinde bakteri izolatları ve SiO₂ NP bitkilerde sinerjik etki göstererek, MDA seviyesini düşürmüş bitkilerin stres toleransını artırmıştır.



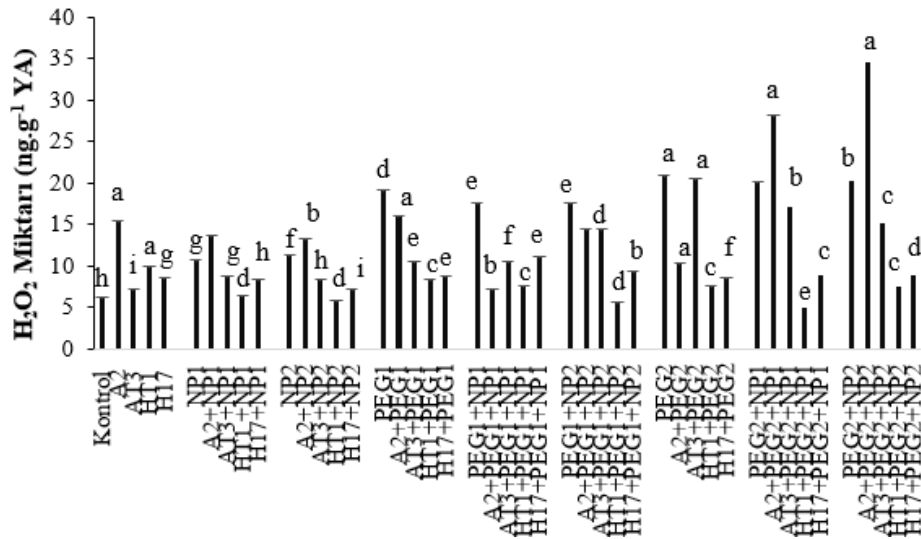
Şekil 4.20. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları MDA üzerine etkileri

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Kuraklık stresi altında bakteri ve SiO₂ NP uygulamalarının bitkilerde oksidatif stres düzeyine etkisini değerlendirmek amacıyla, H₂O₂ birikimi ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.21). Kontrol bitkisine kıyasla, kuraklık stresinde genel olarak bakteri izolatları ve SiO₂ NP uygulamaları H₂O₂ miktarını azaltmıştır. H₂O₂ miktarı 5 ile 34,5683 ng/g değişiklik göstermiştir. En düşük

değer HT1 + 2,5 ppm SiO₂ %20 PEG kuraklık stresinde, en yüksek değer A2 + 2,5 ppm SiO₂ %20 PEG kuraklık stresinde gözlemlenmiştir. Yapılan diğer çalışmalarda farklı stres koşullarında stresi hafifletmek için endofitik bakteriler kullanılmış ve H₂O₂ seviyelerindeki değişim ölçülmüştür. Pal et al. (2021) çalışmasında yer fıstığında tuz stresini hafifletmek için endofitik bakteri kullanılmıştır. *Bacillus* sp. REN51N, *Bacillus tequilensis* SEN15N ve *Bacillus firmus* J22N endofitleriyle inoküle edilen bitkilerde kontrole göre H₂O₂ seviyesi düşmüştür. Abbas et al. (2024) çalışmasında çilek (*Fragaria chiloensis* var. *ananassa*) bitkilerinden izole edilen *Bacillus velezensis*, *B. megaterium* ve *Herbaspirillum huttiense*, *Rhizoctonia* kök çürüklüğü hastalığıyla mücadele etmek ve domates bitkilerinde kullanılmıştır. Endofitik bakterilerin tek başına ve kombinasyon halinde uygulanması, H₂O₂ seviyelerini düşürmüştür. Literatür bulguları endofitik bakterilerin oksidatif stres göstergesi olan H₂O₂ seviyesini düşürerek bitkilerde strese dayanıklılığı artırabileceğini göstermiştir. Çalışmamızda da A2 bakterisinin dışındaki diğer bakteri izolatları genel olarak SiO₂ NP ile birlikte kuraklık stresi altındaki bitkilerde H₂O₂ düzeylerini azaltmış ve oksidatif hasarı hafifletmiştir. A2 bakterisindeki bu artışlara bakıldığında H₂O₂'nin sadece zararlı bir molekül olarak değil sinyal iletiminde de rol oynayabildiği dikkate alınmalı ve bu artışın geçici bir artış olabileceği dikkate alınmalıdır.

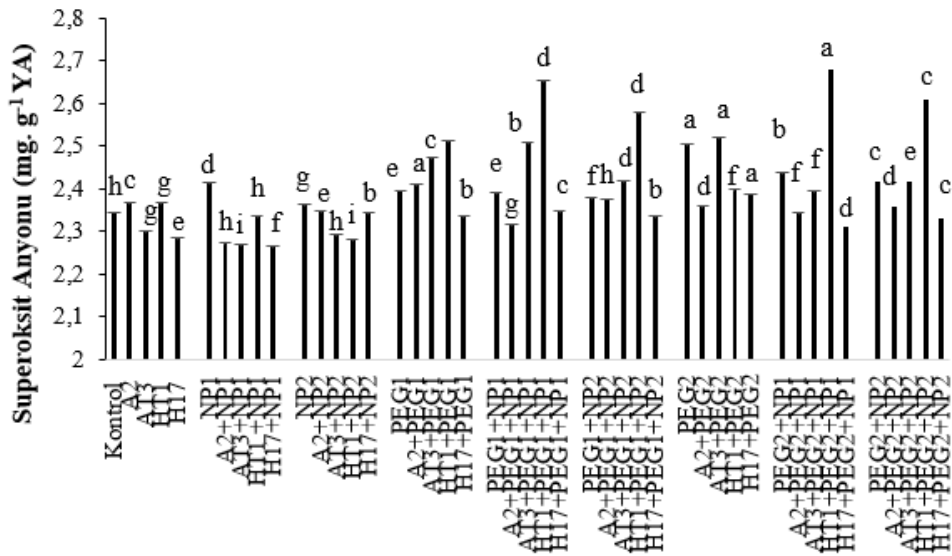


Şekil 4.21. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları H₂O₂ seviyesi üzerine etkileri

Veriler ortalama ± SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

H₂O₂'ye ilave olarak kuraklık stresi, bakteri ve SiO₂ NP uygulamalarının bitkilerde oksidatif stres düzeyine etkisini değerlendirmek amacıyla, O₂⁻ anyonu içeriği ölçülmüştür. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir (Şekil 4.22). Kontrol bitkisine kıyasla özellikle kuraklık stresindeki değişimler göz önüne alındığında O₂⁻ miktarındaki değişim HT1 bakteri izolatının uygulandığı her dozda artış göstermiştir. O₂⁻ miktarı 2,2636 ile 2,6782 mg/g değişiklik göstermiştir. En düşük değer H17 + 2 ppm SiO₂ uygulamasında, en yüksek değer HT1+ 2 ppm SiO₂ %20 PEG kuraklık stresinde gözlemlenmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda da endofitik bakteri ve NP uygulamalarının etkileri O₂⁻ radikali açısından değerlendirilmiştir. Jiang et al. (2025) çalışmasında salatalıklarda *Variovorax* sp. R1 bakterisinin şeker metabolizması, solunum ve antioksidan kapasitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Kontrol grubunda H₂O₂, O₂⁻ ve MDA seviyelerini önemli ölçüde artarken endofit R1 ile aşılama yapılan grupta, H₂O₂ ve O₂⁻ seviyeleri düşmüştür. Khalofah et al. (2025) çalışmasında. Nikel stresindeki karpuz bitkilerinin daha fazla hidrojen peroksit, lipid peroksidasyonu, oksidatif hasara sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, Ni toksisitesi altındaki ZnONP'lerle desteklenmiş karpuz bitkileri, O₂⁻ miktarı azalmış ve oksidatif stres önemli ölçüde düşmüştür. Çalışmamızda HT1 bakterisinin uygulandığı bitkilerde O₂⁻ seviyelerinin yükselmesi, diğer literatür bulgularından farklılık göstermiştir. Bu bulgular HT1 izolatının farklı bir mekanizma ile etki etmiş olduğunu veya bitkinin savunma sisteminde farklı bir yanıt vermiş olabileceğini göstermiştir.



Şekil 4.22. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları O₂⁻ seviyesi üzerine etkisi

Veriler ortalama ± SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

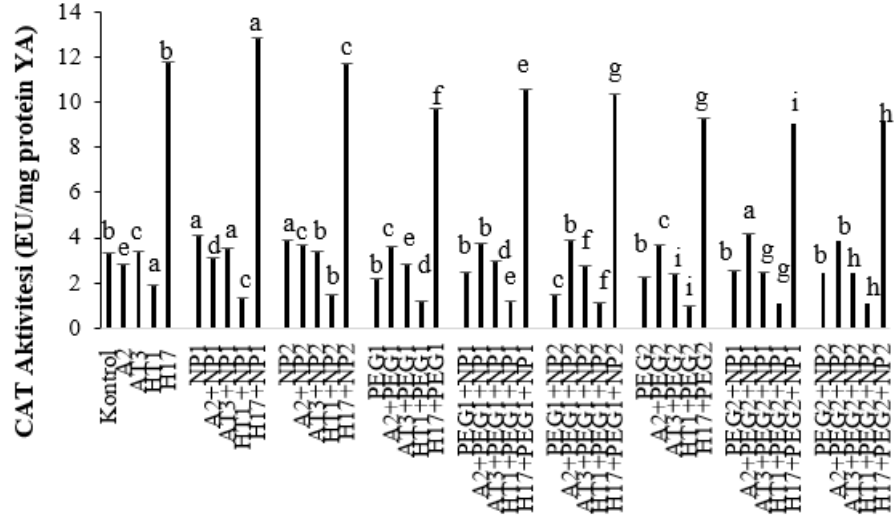
(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Kuraklık stresi, yukarıdaki verilerde de görüldüğü gibi ROS birikimine yol açarak hücrel zararlar neden olur. Bu zararlı etkilerin azaltılmasında bitkinin savunma mekanizmasının önemli bir parçası olan antioksidan enzimler (örneğin SOD, CAT, APX) kritik rol oynar. Bu nedenle, kuraklık koşullarında bu enzimlerin aktivite düzeylerini ölçmek, bitkinin stres koşullarına karşı verdiği fizyolojik yanıtı ve tolerans düzeyini değerlendirmek açısından büyük önem taşır. Ayrıca farklı uygulamaların (örneğin bakteri izolatları veya NP'ler) bu enzim aktiviteleri üzerindeki etkisini belirlemek, stres toleransını artırıcı stratejilerin etkinliğini ortaya koymak açısından gereklidir.

Çalışmamızda, bitkilerin oksidatif stresle başa çıkma kapasitesini değerlendirmek amacıyla, antioksidan savunma sistemine ait SOD, CAT, POX, APX ve GR enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar SPSS ile analiz edilerek, grafik olarak gösterilmiştir. Bu sayede farklı uygulamaların bitkinin enzimatik savunma yanıtı üzerindeki etkileri detaylı bir şekilde ortaya konulmuştur.

Kontrol bitkisine kıyasla özellikle kuraklık stresindeki değişimler göz önüne alındığında CAT aktivitesi genel olarak bakteri izolatlarının uygulandığı konsantrasyonlarda artış göstermiştir (Şekil 4.23). CAT aktivitesi 1,08 ile 12,85 EU/mg protein arasında değişiklik göstermiştir. En düşük değer HT1+ 2,5 ppm SiO₂ %20 PEG kuraklık stresinde, en yüksek değer H17 + 2 ppm SiO₂ uygulamasında gözlemlenmiştir. Guo, et al. (2021) çalışmasında *Sphingomonas prati* ve *Sphingomonas zeicaulis* endofitik bakterileriyle aşılansın *Suaeda salsa*'nın %20 NaCl'deki etkileri incelenmiştir. *S. prati* aşılansındaki CAT artışı, %20 NaCl altında *S. zeicaulis* aşılansına kıyasla sırasıyla 1,03 ve 1,47 kat daha fazla olarak hesaplanmıştır. Zhao et al. (2023) çalışmasında soya fasulyesi kök nodüllerinden izole edilen endofitler kullanılarak tuz stresi uygulanmış ve değerlendirilmiştir. Sonuçlar, *Enterobacter ludwigii* bakteri süspansiyonu ile aşılandığında ve 14 gün boyunca bekletildiğinde CAT aktivitesi en yüksek seviyeye ulaşmıştır, CAT aktiviteleri tuz stresi altında farklı derecelerde artmıştır. Literatür verileriyle sonuçlar uyumlu olarak bulunmuştur. Endofitik bakterilerin bitkilerde oksidatif stresle mücadelede önemli olduğu ve katalaz

gibi antioksidan enzimlerini artırarak reaktif oksijen türevlerinin etkilerini sınırladığını göstermiştir.



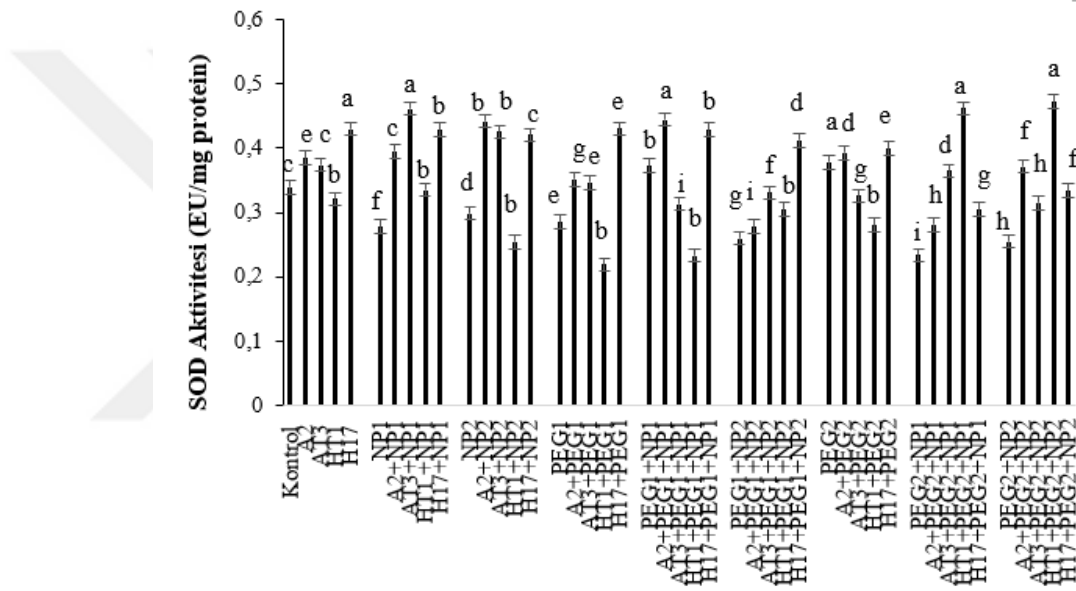
Şekil 4.23. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları CAT aktivitesi bulguları

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Kontrol bitkisine kıyasla özellikle kuraklık stresindeki değişimler göz önüne alındığında SOD aktivitesi HT1 dışındaki diğer izolatlarının uygulandığı konsantrasyonlarda artış göstermiştir (Şekil 4.24). SOD aktivitesi 0,2187 ile 0,4724 EU/mg arasında değişiklik göstermiştir. En düşük değer HT1 izolatının uygulandığı %10 PEG kuraklık stresi en yüksek değer ise HT1 + 2,5 ppm SiO₂ NP'lerinin uygulandığı %20 PEG kuraklık stresinde gözlemlenmiştir. Farklı stres koşullarında endofitik bakteri uygulamalarında SOD aktivitesi belirlenmiştir. HT1 izolatı farklı koşullarda SOD aktivitesini azaltırken, SiO₂ NP ile birlikte uygulamasında en yüksek değere ulaşmıştır. Mehrasa et al. (2022) çalışmasında baklagiller, özellikle beyaz *Phaseolus vulgaris* kuraklık stresinde, salisilik asit, *B. subtilis* ve *P. putida* uygulanmıştır. Sonuçlar, SOD aktivitesinin stres altında kontrolde azaldığını, en yüksek SOD aktivitesinin 2 mM SA uygulaması olmaksızın *B. subtilis* ve *P. putida* ile aşılandığında gözlemlendiğini (814, 790 nmol min g⁻¹) göstermiştir. SA konsantrasyonunun 1 ve 2 mM'ye çıkarılması, SOD aktivitesinde sırasıyla %13 ve %14'lük bir azalma göstermiştir. *B. subtilis* uygulamasında en yüksek SOD aktivitesi gözlemlenmiştir (624 nmol min g⁻¹). Bir diğer Zhou et al. (2021) çalışmasında *Bacillus*

koreensis CGMCC 19,468 olarak tanımlanmış olan Cd dirençli bakteri pirinçlere uygulanmıştır. Tohum aşılama yoluyla pirinç köklerini kolonize ederek, SOD aktivitesi Cd stresi altında önemli ölçüde azalmıştır. Ancak, endofitik bakteriyle aşılamanın gruplar artmış ve normal kültür seviyesine yaklaşmıştır. Bu çalışmalar ve elde ettiğimiz veriler, endofitik bakterilerin oksidatif stres göstergesi olan SOD aktivitesini artırarak, ROS zararlı etkilerini azaltmaya ve bitkilerin stres toleransını güçlendirmeye yardımcı olduğunu ortaya koymuştur. Sonuç olarak çalışmamızda da bu bulgularla paralel olarak, bakteriyel izolatlar ve SiO₂ NP'leri özellikle yüksek kuraklık stresinde SOD aktivitesini artırarak oksidatif hasarı azaltmaya çalışmış ve stres toleransını iyileştirmiştir.



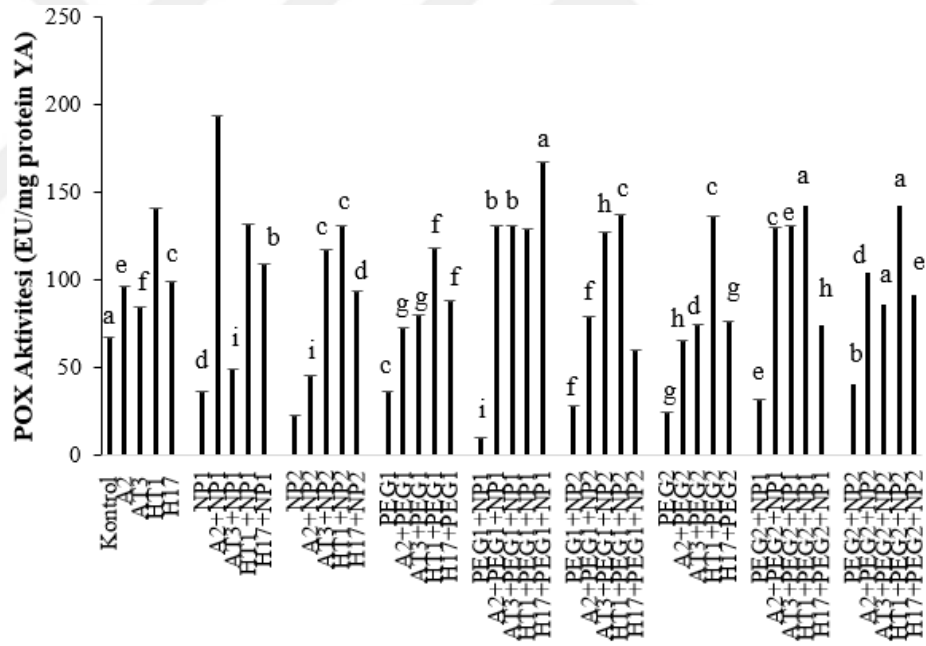
Şekil 4.24. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları SOD aktivitesi bulguları

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

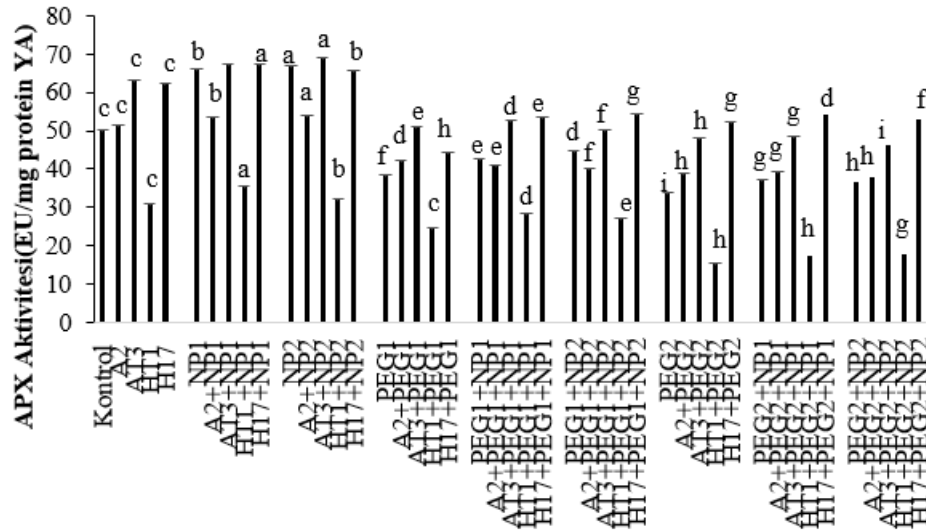
(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

Kontrol bitkisine kıyasla özellikle kuraklık stresindeki değişimler göz önüne alındığında POX miktarında tüm bakteri izolatlarında artış olmuştur (Şekil 4.25). POX aktivitesi 10,5 ile 193,7 EU/mg arasında değişiklik göstermiştir. En düşük değer 2 ppm NP'lerin uygulandığı %10 PEG kuraklık stresinde en yüksek değer ise A2 + 2 ppm SiO₂ NP uygulamasında görülmüştür. Yapılan farklı çalışmalarda bitkide endofit uygulamalarıyla POX miktarındaki değişimler incelenmiştir. Lanna-Filho et al. (2017) çalışmasında *Bacillus pumilus* ve *B. amyloliquefaciens*, domates bitkilerinde hastalıklara karşı direnç oluşturma yetenekleri açısından değerlendirilirken

iki *Bacillus* türüyle ve yeşil floresan protein işaretli *Pseudomonas syringae* pv. *İle* aşılanmıştır. Bitki özütlerinde POX aktivitesi değerlendirilmiş ve artış gösterdiği anlaşılmıştır. Perez-Rosales et al. (2018) çalışmasında ise *in vitro* jojoba dişi ve erkek bitkilerin sürgünleri *Azospirillum brasilense* (Cd), *Methylobacterium aminovorans* (JRR11), *Rhodococcus pyridinivorans* (JRR22) suşlarıyla ve JRR11 + JRR22 karışımı ile birlikte aşılanmıştır. Erkek ve dişi bitkilerin yapraklarındaki POX aktivitesinde uygulamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır, ancak birlikte aşılanan bitkilerin uygulamalarının en yüksek POX aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Tüm bu bulgular, endofitik bakterilerin ve SiO₂ NP'lerinin, bitkilerde oksidatif stresle başa çıkmayı kolaylaştıran enzimatik savunma mekanizmalarını da artırdığını göstermiştir. Çalışmamızda tüm uygulamalarda kontrol gruplarına göre artış olması hem bakteriler hem de SiO₂ NP ile de sağlandığını ve A2 izolatının bu savunma mekanizmasını en güçlü şekilde desteklediğini göstermiştir.



çalışmasında *Sphingomonas* SaMR12 bakterisi Cd stresi altındaki *Brassica juncea* (L.) Czern. bitkisine uygulanmıştır. Sürgünlerdeki APX aktivitesi Cd tedavi seviyelerinin artmasıyla azalırken, kök APX aktivitesi 1 μ M Cd tedavisinde olmuştur ancak 10 ve 20 μ M Cd tedavileri altında azalmıştır. SaMR12 ile aşılama sürgün APX aktivitesini hafifçe artırmış, kök APX aktivitesini sırasıyla 0, 1 ve 10 μ M Cd tedavilerinde %567, %13 ve %13 oranında önemli ölçüde artırmıştır. Endofitik izolat *B. subtilis* suşu SSA4'ün ve ekzojen IAA farklı NaCl (0-300 mM) stresleri altında pirinç fidelerine uygulanmıştır. Tuzlu su uygulanmamış fidelere kıyasla daha düşük ve daha yüksek NaCl dozlarında APX (%5 ve %8) azalmıştır. *B. subtilis* SSA4 ve IAA + *B. subtilis* SSA4 ile aşılama, tuzlu kontrol fidelere kıyasla sırasıyla düşük dozlarda APX'i (%2,58, %7,56 ve %16,16) ve yüksek dozlarda (%6,67, %8,85 ve %15,64) artırmıştır. APX enzimi, bitkilerde oksidatif stres durumunda oluşan H_2O_2 'yi detoksifiye edebilen bir antioksidan enzimdir. Literatür bulgularıyla kıyaslandığında çalışmamızda da artış gözlemlenmiştir. Sonuçlar endofitik bakterilerle birlikte SiO_2 NP'ler bitkide oksidatif stres yanıtlarını aktive ederek stres toleransını artırdığını göstermiştir.



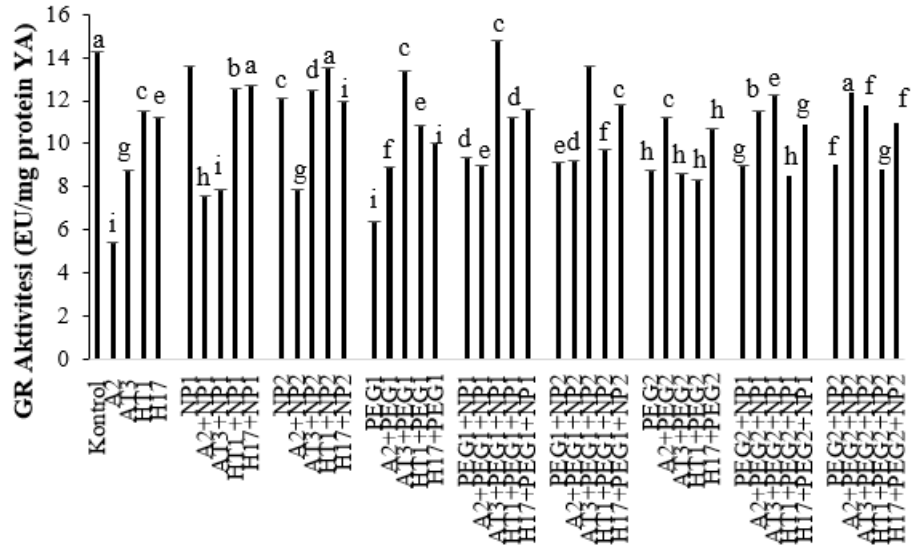
Şekil 4.26. Bakteri ve SiO_2 uygulamaları APX aktivitesi bulguları

Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO_2 NP2: 2,5 ppm SiO_2 PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

GR aktivitesi 5,42 ile 14,8 EU/mg arasında değişiklik göstermiştir (Şekil 4.27). En düşük değer A2 izolatında, en yüksek değer ise AT3 + 2 ppm SiO_2 %10 PEG

kuraklık stresinde gözlenmiştir. AT3 izolatının kuraklık koşulunda GR aktivitesini belirgin şekilde artırması, bakteri izolatının glutatyon döngüsü üzerinden bitkide strese karşı koruma sağlama potansiyelini göstermiştir. A2 izolatının en düşük GR aktivitesi göstermesi, izolatın POX aktivitesindeki yüksek performansı ile tezat olsa da ve farklı antioksidan yollarındaki stres yanıtı göstermiştir. Çakmakçı vd. (2021) çalışmasında asidik tarla koşullarda çay bitkisine endofitik özellikleri olan bakteriler üçlü kombinasyon şeklinde uygulanmıştır (BF9, BF10,BF11). Kontrol bitkisine göre bakıldığında GR miktarında artış görülmüştür. Literatürde bildirilen elde edilen bulgularda olduğu gibi çalışmamızda da endofitik bakterilerin ve SiO₂ NP'lerinin bitkilerde GR gibi antioksidan enzimlerini artırarak stres toleransını yükseltmiştir.



Şekil 4.27. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları GR aktivitesi bulguları

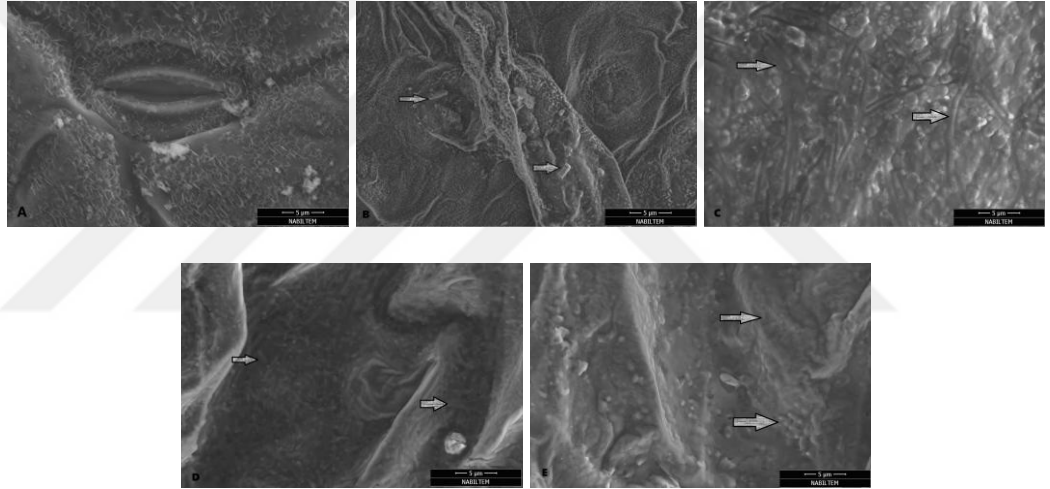
Veriler ortalama $\pm$ SE (n = 3) olarak rapor edilmiştir. Farklı küçük harfler, $p < 0,05$ düzeyinde anlamlı farkı göstermektedir.

(NP1: 2 ppm SiO₂ NP2: 2,5 ppm SiO₂ PEG1: %10 PEG-6000 PEG2: %20 PEG-6000)

4.11.SEM (Taramalı Elektron Mikroskopu) Analizi Değerlendirmesi

Endofitik bakterilerin bitkiye yerleşimi göstermek amacıyla, Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Laboratuvarında hizmet alımıyla yapılmıştır (Şekil 4.28). (Sırasıyla kontrol, A2, AT3, HT1, H17 izolatlarının uygulamaları analiz edilmiştir.) Kontrol grubunda herhangi bir bakteri uygulaması olmadığı için yaprakta bakteri kolonileri gözlenmezken A2, AT3, HT1, H17 bakterilerinin uygulandığı örneklerde ok işareti ile gösterilen yerlerde bakteri kolonizasyonları görülmüştür. Farklı birçok

çalışmada da bakteri kolonizasyonunu göstermek için SEM analizi yapılmıştır. Yang et al. (2019) çalışmasında *Atractylodes macrocephala*'daki endofitik bakterilerin kolonizasyonunu gözlemlemek için SEM analizi yapılmış ve bakteri kolonizasyonu doğrulanmıştır. Sriram et al. (2020) çalışmasında Hindistan cevizi endoderm etinde mikrobiyal hücrelerin varlığını göstermek için SEM analizi kullanılmıştır. Pupakdeepan et al. (2023) çalışmasında endofitik bakteri olan *Streptomyces* CINv1 suşu bitki hücrelerini kolonize etmiş ve bitki sağlığını geliştirmiştir. SEM analiziyle CINv1 sporlarının ve miselyumunun çilek hücrelerine girme yeteneği gösterilmiştir. SEM analiziyle elde edilen sonuçlar, bakteri izolatlarının yaprak dokularına başarılı bir şekilde kolonize olabildiklerini ve bitki bakteri etkileşimlerinin görsel olarak doğrulandığını ortaya koymuştur.



Şekil 4.28. Bakteri ve SiO₂ uygulamaları sonucu SEM görüntüleri

4.12. Bakteri Uygulanan Bitkilerden Endofitik Kolonizasyon Doğrulanması

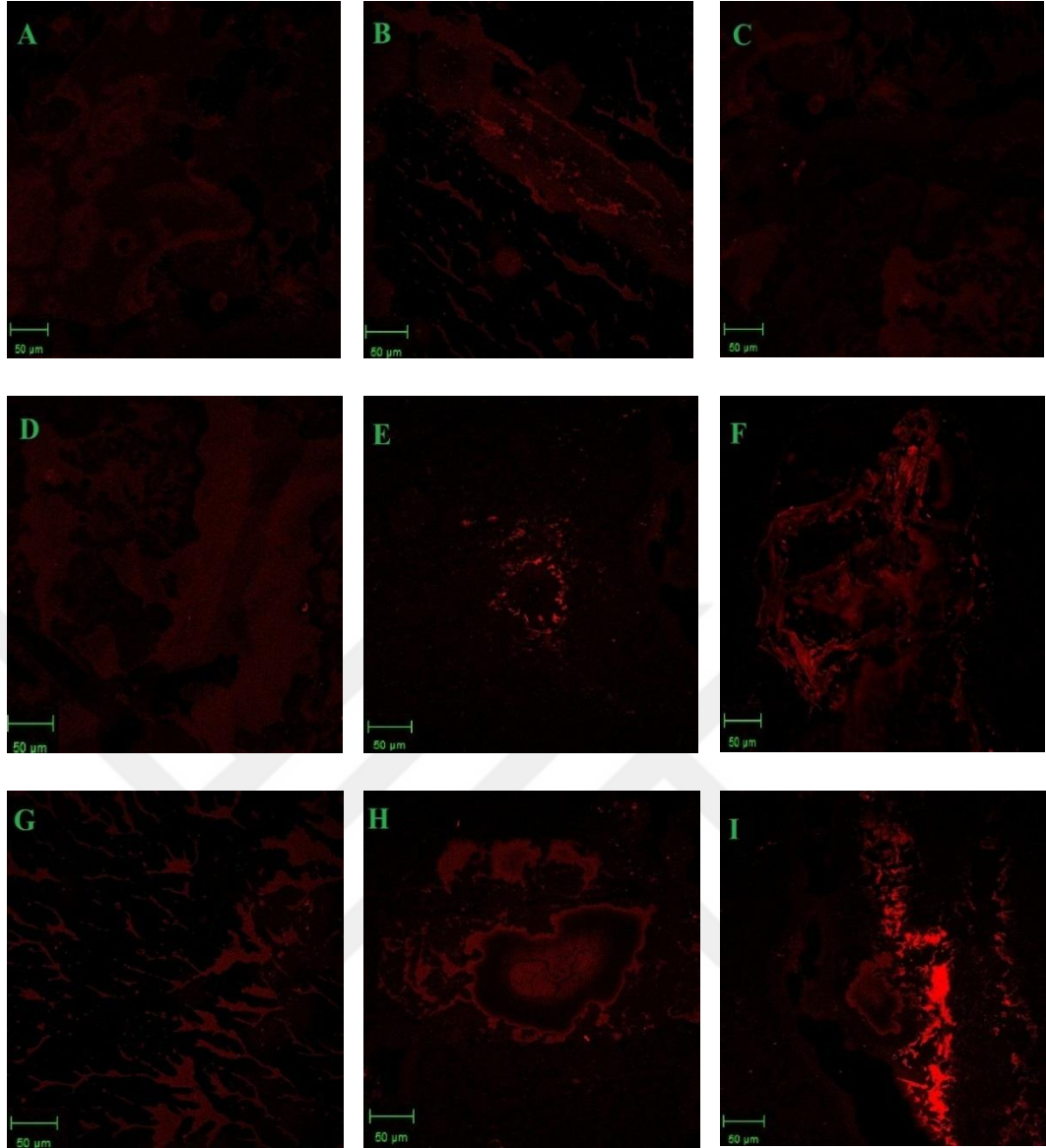
En iyi etki gösterdiği düşünülen AT3 ve H17 bakteri izolatlarının doğruluğunu kanıtlamak için bu bakterilerle aşılanmış yonca bitkisi kullanılmıştır. Yonca yüzeyi sterilize edilerek bakteri izolatları elde edilmiştir. Koloni yapılarına bakıldığında önceki bakterilerle benzerlik göstermiştir. Sadece morfolojik değerlendirme yeterli olmayacağı için bakteri izolatları Simsek Geyik (2024) tarafından önerilen metoda göre belirlenmiştir. 16S rRNA gen bölgesine ait sekans analizleri BioEdit proramı kullanılarak değerlendirilmiştir. Gen Bankasındaki dizi analizleriyle karşılaştırılarak tür seviyesinde tanımlama yapılarak *Bacillus proteolyticus* (AT3) ve *Enterobacter*

hormaechei subsp. *Xiangfangensis*) (H17) sonuçları doğrulanmıştır. Egamberdieva, et al. (2017) çalışmasında nohut tohumları endofitik bakteri suşlarıyla inoküle edilmiştir. Bitkiler steril şartlarda büyütüldükten 10 gün sonra kök dokularından bakterilerin tekrar izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Kök dokularından bakteri izolasyonu yapılmış ve koloni oluşumları görülmüştür herhangi bir moleküler tanılama yapılmamıştır ancak bitki dokularında başarılı bir şekilde kolonizasyon olduğu gözlemlenmiştir ve doğrulanmıştır. Shalovylo et al. (2024) çalışmasında Scots çamı bitkisinden izole edilen bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin çoklu özellikleri incelenmiş ve bitki büyümesi üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Bakteriler bitki dokularından tekrar izole edilmiştir. Bu işlem, bakterilerin bitki içindeki kolonizasyonlarını doğrulamak amacıyla yapılmıştır. İzole edilen bakteriler, 16S rRNA gen dizilemesi kullanılarak *P. putida* P57, *Pseudomonas lurida* P88, *Pseudomonas lurida* P10-1 ve *Stenotrophomonas maltophilia* P77 bakterilerin olduğu görülmüş ve doğrulanmıştır. Bizjak-Johansson et al. (2025) çalışmasında Boreal orman ekosisteminden azot sınırlı koşullarda bakteriler izole edilmiştir. Bitki büyümesi teşvik edici özelliklere sahip olup olmadıkları azot fiksasyonu, IAA üretimi, fosfor çözünürlüğü açısından değerlendirilmiştir. Seçilen bakteriler, buğday, mısır gibi tarım bitkilerine inoküle edilmiştir. Bitkideki kolonizasyonunu doğrulamak için tekrar izolasyon yapılmış 16s rRNA analizleri yapılarak aynı bakteriler olduğu gözlemlenmiştir. Moturu et al. (2025) çalışmasında mısır bitkisinin rizosferinden 23 bakteri izole edilmiştir. PGPR özelliklerine sahip olan suşlarının, mısırın büyümesine verimine olan katkıları değerlendirilmiştir. PGPR'lar mısır bitkisine inoküle edildikten sonra, bu bakteriler tekrar izole edilerek kolonizasyonun başarılı olup olmadığı doğrulanmıştır. Ayrıca bakterilerin 16s rRNA gen dizilemesi yapılarak aynı suşların olduğu gösterilmiştir. Literatür verileriyle karşılaştırıldığında çalışmada yonca bitkisine inoküle edilen bakteri izolatları (AT3 ve H17) bitki büyüme gelişimi sağlandıktan sonra tekrar izole edilerek 16s rRNA sekans analizi yapılmıştır. Sonuçlar ilk izolasyondaki verilerle birebir uyumuş uygulanan bakterilerin kolonizasyonu daha önce SEM analiziyle gösterilmiş olsa da bu izolasyon metoduyla da doğrulanmıştır.

4.13.CLSM (Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop) Analizi Değerlendirmesi

Çalışmamız kapsamında CLSM analizi, SiO₂ NP bitki dokularına girişini ve dağılımını görsel olarak doğrulamak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Özellikle en etkili

olduğu düşünölen AT3 ve H17 bakteri izolatları ile muamele edilen yonca bitkileri kullanarak, bu bakterilerin NP alımına olan etkisi araştırılmıştır. Görüntü alınabilmesi için yonca örnekleri parafine gömölümüş, alınmış lam üzerine fikse edilmiştir (Şekil 4.29). Rhodamine B boyasıyla boyanan slaytlardan CLSM ile görüntü alma işlemi gerçekleştirilmiştir. CLSM analizi sayesinde SiO₂ NP uygulamasının yapıldığı yonca bitki hücrelerinde NP'lerin girişinin olup olmadığı gözlemlenmiştir. Kontrol gruplarında çok fazla ışıma olmazken Rhodamine B boyasının bağlandığı SiO₂ NP'nin uygulandığı örneklerde birikimler sonucu ışımalar olmuştur. Kontrol grubunda kıyaslandığında en çok birikme 2 ppm SiO₂ uygulamasında gözlemlenmiştir. H17 bakteri grubunda ise en çok birikme 2.5 ppm SiO₂ uygulamasında gözlemlenmiştir. AT3 bakteri grubunda ise en fazla birikim 2.5 ppm SiO₂ uygulamasında gözlemlenmiştir. De Angelis et al. (2023) çalışmasında biyopolimerik PLGA (poli (laktik-ko-glikolik asit)) NP *Arabidopsis thaliana* bitkisinin kültür hücreleri ve bitki kökleri tarafından nasıl alındığını incelemek amacıyla CLSM analizi yapılmıştır. Akçay et al. (2025) çalışmasında yonca kallus dokularına uygulanan CaO, ZnO, CuO NP'leri CLSM kullanılarak incelenmiştir. CLSM analizleri sonucu NP'lerin kallus dokularına girişi ve dağılımını görselleştirmiştir. Literatür verileriyle karşılaştırıldığında yonca bitkisine uygulanmış SiO₂ NP'lerinin hücre içirisini gözlemlemek için öncelikli olarak mikrotom cihazıyla kesit alınmış, CLSM analizi yapılmış ve sonuçlar literatüre uygun olarak çıkmıştır.



Şekil 4.29. CLSM analizi bulguları A: Kontrol B: Kontrol 2 ppm SiO₂ C: 2.5 ppm SiO₂ D:AT3 Kontrol E: AT3 2 ppm SiO₂ F: AT3 2,5 ppm SiO₂ G: H17 Kontrol H: H17 2 ppm SiO₂ I: H17 2.5 ppm SiO₂

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada, Türkiye florasında doğal olarak yetişen iki sukulent türünden ilk kez kuraklık stresine toleranslı ve bitki büyümesini teşvik edici (PGPB) özelliklere sahip endofitik bakteriler izole edilmiş ve karakterizasyonları yapılmıştır. Elde edilen bulgular, hem kuraklık toleransı yüksek mikrobiyal kaynakların belirlenmesi hem de sürdürülebilir tarım uygulamaları için potansiyel biyogübre adaylarının ortaya konulması açısından önemli bir yenilik sunmaktadır. Çalışma bulguları, mikrobiyal kaynakların tarımsal biyoteknolojide kullanılabilirliğini bu bakterilerin kuraklık gibi önemli bir abiyotik strese bitki dayanıklılığı artırabileceğini göstermiştir.

Çalışma kapsamında izole edilen 40 bakterinin tamamı PGPB özellikleri açısından değerlendirilerek; bunlardan en etkili olduğu düşünülen 4 bakteri izolatu moleküler olarak tanımlanmıştır. Seçilen bu 4 izolat, %10 ve %20 PEG-6000 ile oluşturulan kuraklık stresine maruz bırakılan yonca bitkilerine *in vitro* olarak uygulanmıştır. Uygulaması yapılan 4 bakteri ise *in vitro* koşullarda olumlu sonuçlar vermiştir. Araştırma kapsamında ayrıca, SiO₂ NP'lerinin bitkiler ve bakterilerle olan etkileşimleri detaylı olarak incelenerek, belirlenen iki optimal dozda bitki besi yerine eklenerek üzerinde olumlu etkiler sağladığı *in vitro* ortamda belirlenmiştir. SiO₂ NP'lerin izole edilen endofitik bakterilerle birlikte bitkide sinerjistik etkiye sahip olduğu ve kuraklık stresinin olumsuz etkilerini azaltmaya katkı sunduğu gösterilmiştir. H₂O₂ ve O₂⁻ gibi ROS bileşiklerinin kuraklık stresindeki artışları bakteri ve SiO₂ NP uygulamaları ile azaltılmıştır. ROS bileşiklerinin düşüşü oksidatif hasarın azaltılmasına önemli bir katkı sağlamıştır. Bu bileşiklerin düşmesi antioksidan enzimlerdeki düzenlenmeyle olduğu düşünülmektedir. Kuraklık stresıyla artan LPO miktarı endofitik bakteri ve SiO₂ Np uygulamaları ile azalmıştır. Farklı bir ifade ile bakteriler, kuraklık stresinin membranlar üzerindeki toksik etkisini düşürerek bitkinin kurak şartlara uyumun sağlanmasında katkıda bulunmuştur. Kurak stresıyla CAT, APX, SOD POX ve GR aktivitesi düşmüştür ancak bakteri ve SiO₂ Np uygulamaları ile genel olarak aktivitelerde artışa sebep olmuştur. Artış miktarları bakteri izolatlarına göre farklılık göstermiştir. Kuraklık stresinde total klorofil miktarı önemli oranda azalmıştır, uygulanan bakteriler ve SiO₂ Np'leri ise artırmıştır. Yapılan SEM analiziyle uygulanan 4 bakterinin (A2, AT3, HT1, H17) yonca hücrelerindeki kolonizasyonu gözlemlenmiştir. SiO₂ Np'lerinin hücredeki

birikimini görmek amacıyla CLSM analizi yapılmış Rhodamine-B boyasıyla etkileşime giren NP'ler görünür hale gelmiştir. Ayrıca yonca bitkisine uygulanan bakterilerin izole edilen bakteriler olup olmadığını görmek amacıyla tekrardan izolasyon yapılmıştır. İzole edilen bakteriler 16S rRNA sekans analizi yapılarak uygulanan bakteriler olduğu doğrulanmıştır. Elde edilen tüm bu verilere göre çalışılan bakteri izolatlarının bitki büyümesini teşvik eden bakteriler grubunda olduğu ve kuraklık stresine karşı toleransı artırmada SiO₂ NP'leriyle sinerjistik etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmada izole edilen endofitik bakterilerin ve SiO₂ NP'lerinin, hem tarımsal uygulamalara hem de literatüre önemli katkılar sunacağı düşünülmektedir.

Bu araştırma bulguları neticesinde aşağıdaki öneriler verilebilir:

- Çalışma sonucunda en etkili olduğu düşünülen AT3 ve H17 izolatlarının, sera ve tarla koşullarında daha uzun süreli, farklı toprak ve iklim şartlarında test edilmesi, böylece biyogübre olarak ticarileştirilmesi için yeni çalışmalar yapılabilir.
- SiO₂ NP'lerinin farklı bitkilerde ve diğer abiyotik stresler (tuzluluk, düşük sıcaklık, ağır metal stresi gibi) altında test edilerek kullanım alanlarının genişletilmesi sağlanabilir.
- Moleküler düzeyde de izolatların kuraklık toleransını artıran mekanizmalarını daha ayrıntılı olarak incelemek, biyoteknolojik potansiyelini daha iyi anlamak için katkı sağlayabilir.
- Daha düşük etki gösteren diğer bakterilerin de genom dizileme çalışmaları yapılarak farklı PGPB özellikleri açısından da değerlendirilmesi yapılabilir.
- Kuraklık dışında, iklim değişikliğinin sebep olduğu çoklu stres koşullarına karşı bitkilerin dayanıklılığını artırmak için bu bakteri izolatları ve NP kullanılabilir.
- Çalışmada kullanılan metodoloji, farklı ekosistemlerde bulunan bitkilerden endofitik mikroorganizmaların izole edilmesi ve değerlendirilmesi için bir model olarak kullanılabilir.
- Tarımsal sürdürülebilirlik açısından, kimyasal gübre ve pestisit kullanımını azaltma potansiyeline sahip olan biyolojik ajanların geliştirilmesi için bu tür çalışmaların desteklenmesi önemlidir.

KAYNAKLAR

- Abbas, M. M., Ismael, W. H., Mahfouz, A. Y., Daigham, G. E., & Attia, M. S. 2024. Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing Rhizoctonia root-rot disease. *Scientific Reports*, 14(1), 1331.
- Abdelmoghies, A. H., Elsehrawy, M. H., Zakaria, A. E., & Fahmy, S. M. 2024. Isolation of Potent Endophytic Bacteria Able to Boost Plant Growth and Control Pathogens. *Arab Journal of Nuclear Sciences and Applications*, 57(1), 127-137.
- Ahluwalia, O., Singh, P. C., & Bhatia, R. 2021. A review on drought stress in plants: Implications, mitigation and the role of plant growth promoting rhizobacteria. *Resources, Environment and Sustainability*, 5, 100032.
- Ahmed, B., Shahid, M., Syed, A., Rajput, V. D., Elgorban, A. M., Minkina, T., ... & Lee, J. 2021. Drought tolerant *Enterobacter* sp./*Leclercia adecarboxylata* secretes indole-3-acetic acid and other biomolecules and enhances the biological attributes of *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek in water deficit conditions. *Biology*, 10(11), 1149.
- Ahmad, H. M., Fiaz, S., Hafeez, S., Zahra, S., Shah, A. N., Gul, B., ... & Wang, X. 2022. Plant growth-promoting rhizobacteria eliminate the effect of drought stress in plants: a review. *Frontiers in Plant Science*, 13, 875774.
- Ahmed, N. I. A. Z., Ahsen, S., Ali, M. A., Hussain, M. B., Hussain, S. B., Rasheed, M. K., ... & Danish, S. 2020. Rhizobacteria and silicon synergy modulates the growth, nutrition and yield of mungbean under saline soil. *Pak. J. Bot*, 52(1), 9-15.
- Ahmed, S., Kouser, S., Asgher, M., & Gandhi, S. G. 2021. Plant aquaporins: A frontward to make crop plants drought resistant. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 1089-1105.
- Akçay, M., Geyik, M. S., Yazicilar, B., Boke, F., Nadaroglu, H., Atıcı, O., & Bezirganoğlu, İ. 2025. Assessment of the Effects of Newly Fabricated CaO, CuO, ZnO Nanoparticles on Callus Formation Maintenance of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Under In Vitro Salt Stress. *Agronomy*, 15(1), 180.
- Akhtar, N., Ilyas, N., Hayat, R., Yasmin, H., Noureldeen, A., & Ahmad, P. 2021. Synergistic effects of plant growth promoting rhizobacteria and silicon dioxide nano-particles for amelioration of drought stress in wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 160-176.
- Al-Amri, S. M. 2021. Application of bio-fertilizers for enhancing growth and yield of common bean plants grown under water stress conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3901-3908.
- Al-Garni, S. M., Khan, M. M. A., & Bahieldin, A. 2019. Plant growth-promoting bacteria and silicon fertilizer enhance plant growth and salinity tolerance in *Coriandrum sativum*. *Journal of Plant Interactions*, 14(1), 386-396.

- Alharbi, K., Rashwan, E., Mohamed, H. H., Awadalla, A., Omara, A. E. D., Hafez, E. M., & Alshaal, T. 2022. Application of silica nanoparticles in combination with two bacterial strains improves the growth, antioxidant capacity and production of barley irrigated with saline water in salt-affected soil. *Plants*, 11(15), 2026.
- Alhoraibi, H., Bigeard, J., Rayapuram, N., Colcombet, J., & Hirt, H. 2018. Plant immunity: the MTI-ETI model and beyond.
- Ali, S., Mehmood, A., & Khan, N. 2021. Uptake, translocation, and consequences of nanomaterials on plant growth and stress adaptation. *Journal of Nanomaterials*, 2021(1), 6677616.
- ALKahtani, M. D., Fouda, A., Attia, K. A., Al-Otaibi, F., Eid, A. M., Ewais, E. E. D., ... & Abdelaal, K. A. 2020. Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic bacteria from desert plants and their application as bioinoculants for sustainable agriculture. *Agronomy*, 10(9), 1325.
- Al-Salihi, S., Bayati, M., Jasim, A. M., Fidalgo, M. M., & Xing, Y. 2022. Magnetic mesoporous TiO₂/Fe₃O₄ nanocomposite adsorbent for removal of sulfamethazine from water. *Environmental Advances*, 9, 100283.
- Al-Snafi, A. E., Khadem, H. S., Al-Saedy, H. A., Alqahtani, A. M., & El-Saber, G. 2021. A review on *Medicago sativa*: A potential medicinal plant. *International Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences Archive*, 1(2), 22-33.
- Altabbaa, S., Mann, N. A., Chauhan, N., Utkarsh, K., Thakur, N., & Mahmoud, G. A. E. 2023. Era connecting nanotechnology with agricultural sustainability: issues and challenges. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 8(2), 481-498.
- Alwutayd, K. M., Rawat, A. A., Sheikh, A. H., Almeida-Trapp, M., Veluchamy, A., Jalal, R., ... & Hirt, H. 2023. Microbe-induced drought tolerance by ABA-mediated root architecture and epigenetic reprogramming. *EMBO reports*, 24(8), e56754.
- Amaral, D. T., Bonatelli, I. A., Romeiro-Brito, M., Moraes, E. M., & Franco, F. F. 2022. Spatial patterns of evolutionary diversity in Cactaceae show low ecological representation within protected areas. *Biological Conservation*, 273, 109677.
- Anaganti, N., Basu, B., Gupta, A., Joseph, D., & Apte, S. K. 2015. Depletion of reduction potential and key energy generation metabolic enzymes underlies tellurite toxicity in *Deinococcus radiodurans*. *Proteomics*, 15(1), 89-97.
- Ananieva, E. A., Christov, K. N., & Popova, L. P. 2004. Exogenous treatment with salicylic acid leads to increased antioxidant capacity in leaves of barley plants exposed to paraquat. *Journal of Plant Physiology*, 161(3), 319-328.
- Aragay, G., Pino, F., & Merkoci, A. 2012. Nanomaterials for sensing and destroying pesticides. *Chemical reviews*, 112(10), 5317-5338.

- Arduini, F., Cinti, S., Scognamiglio, V., Moscone, D., & Palleschi, G. 2017. How cutting-edge technologies impact the design of electrochemical (bio) sensors for environmental analysis. A review. *Analytica Chimica Acta*, 959, 15-42.
- Arslan, M., Bıçakcı, T., & Aksu, E. 2020. Kaplanmış yonca (*Medicago sativa* L.) tohumlarının kuraklık stresi koşullarında çimlenme özelliklerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(2), 124-136.
- Aslam, A., Ahmad Zahir, Z., Asghar, H. N., & Shahid, M. 2018. Effect of carbonic anhydrase-containing endophytic bacteria on growth and physiological attributes of wheat under water-deficit conditions. *Plant Production Science*, 21(3), 244-255.
- Aziz, M. A., Sabeem, M., Kutty, M. S., Rahman, S., Alneyadi, M. K., Alkaabi, A. B., ... & Masmoudi, K. 2023. Enzyme stabilization and thermotolerance function of the intrinsically disordered LEA2 proteins from date palm. *Scientific reports*, 13(1), 11878.
- Baka, Z. A., & El-Zahed, M. M. 2022. Antifungal activity of silver/silicon dioxide nanocomposite on the response of faba bean plants (*Vicia faba* L.) infected by *Botrytis cinerea*. *Bioresources and Bioprocessing*, 9(1), 102.
- Barraza, A., Vizuet-de-Rueda, J. C., & Alvarez-Venegas, R. 2020. Highly diverse root endophyte bacterial community is driven by growth substrate and is plant genotype-independent in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *PeerJ*, 8, e9423.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. A., & Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1), 205-207.
- Batista, R. A., Espitia, P. J. P., Quintans, J. D. S. S., Freitas, M. M., Cerqueira, M. Â., Teixeira, J. A., & Cardoso, J. C. 2019. Hydrogel as an alternative structure for food packaging systems. *Carbohydrate polymers*, 205, 106-116.
- Bharadwaj, A. 2024. Influence of endophytes on plant growth and abiotic stress. In *Plant endophytes and secondary metabolites* (pp. 159-174). Academic Press.
- Bielach, A., Hrtyan, M., & Tognetti, V. B. 2017. Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1427.
- Bizjak-Johansson, T., Braunroth, A., Gratz, R., & Nordin, A. 2025. Inoculation with in vitro promising plant growth-promoting bacteria isolated from nitrogen-limited boreal forest did not translate to in vivo growth promotion of agricultural plants. *Biology and Fertility of Soils*, 61(5), 925-940.
- Brahmbhatt, N. H., & Kalasariya, H. S. 2015. Effect of algae on seedling growth of “Queen of Forages”. *International Journal of Engineering Research and General Science*, 3(2), 827-833.
- Caetano-Anolles, G., Joshi, P. A., & Gresshoff, P. M. 1993. Nodule morphogenesis in the absence of *Rhizobium*. In *New Horizons in Nitrogen Fixation: Proceedings of the*

9th International Congress on Nitrogen Fixation, Cancún, Mexico, December 6–12, 1992 (pp. 297-302). Dordrecht: Springer Netherlands.

- Chahdoura, H., Mzoughi, Z., Ellouze, I., Mekinić, I. G., Čmíková, N., El Bok, S., ... & Káčániová, M. 2024. *Opuntia* species: A comprehensive review of chemical composition and bio-pharmacological potential with contemporary applications. *South African journal of botany*, 174, 645-677.
- Chandrashekar, H. K., Singh, G., Kaniyassery, A., Thorat, S. A., Nayak, R., Murali, T. S., & Muthusamy, A. 2023. Nanoparticle-mediated amelioration of drought stress in plants: a systematic review. *3 Biotech*, 13(10), 336.
- Chattaraj, S., Samantaray, A., Ganguly, A., & Thatoi, H. 2025. Employing plant growth-promoting rhizobacteria for abiotic stress mitigation in plants: with a focus on drought stress. *Discover Applied Sciences*, 7(1), 68.
- Chaves, M. M., Maroco, J. P., & Pereira, J. S. 2003. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional plant biology*, 30(3), 239-264.
- Chen, Y. G., Cui, X. L., Li, W. J., Xu, L. H., Wen, M. L., Peng, Q., & Jiang, C. L. 2008. *Salinicoccus salitudinis* sp. nov., a new moderately halophilic bacterium isolated from a saline soil sample. *Extremophiles*, 12(2), 197-203.
- Chen, Y., Huang, R., Xu, Z., Li, X., Ma, C., & Zhang, F. 2025. Responses of the physiological characteristics and endophytic bacteria of *Urtica cannabina* to simulated drought stress. *Scientific Reports*, 15(1), 12080.
- Chieb, M., & Gachomo, E. W. 2023. The role of plant growth promoting rhizobacteria in plant drought stress responses. *BMC plant biology*, 23(1), 407.
- Choudhury, A. R., Trivedi, P., Madhaiyan, M., Choi, J., Choi, W., Park, J. H., ... & Sa, T. 2023. ACC deaminase producing endophytic bacteria enhances cell viability of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress by regulating ethylene emission pathway. *Environmental and Experimental Botany*, 213, 105411.
- Compant, S., Clément, C., & Sessitsch, A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo-and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(5), 669-678.
- Cruz de Carvalho, M. H. 2008. Drought stress and reactive oxygen species: production, scavenging and signaling. *Plant signaling & behavior*, 3(3), 156-165.
- Çakmakçı, R., Akçura, S., & Erat, M. 2021. Çoklu Özellikli Bakteri Esaslı Biyo-Formüllerin Çayın Gelişim, Verim ve Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(3), 594-604.
- Dağhan, H., Gülmezoğlu, N., Köleli, N., & Karakaya, B. 2020. Impact of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs) on growth and mineral nutrient uptake of wheat (*Triticum vulgare* L.). *Biotech Studies*, 29(2), 69-76.

- Daler, S., Kaya, Ö., Cantürk, S., Korkmaz, N., Kılıç, T., Karadağ, A., & Hatterman-Valenti, H. 2024. Silicon nanoparticles (SiO₂ NPs) boost drought tolerance in grapevines by enhancing some morphological, physiological, and biochemical traits.
- Danish, M., Altaf, M., Shahid, M., Robab, M. I., Amir, M., Ahmed, S. M., ... & Mohamed, H. I. 2025. Synergistic interaction of silicon dioxide nanoparticles (SiO₂NPs) and *Pseudomonas fluorescens* to combat *meloidogyne incognita* infestation: enhancing growth, biochemical and antioxidant activities in *Trachyspermum ammi* (L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 25(1), 1505-1523.
- Dao, J., Xing, Y., Chen, C., Chen, M., Wang, Z., & Chen, Y. 2025. Changes in shoot and root adaptations of fibrous-root and taproot crops in response to different drought types: A meta-analysis. *Agricultural Water Management*, 309, 109320.
- Dargiri, S. A., Naeimi, S., & Nekouei, M. K. 2025. Enhancing wheat resilience to salinity: the role of endophytic *Penicillium chrysogenum* as a biological agent for improved crop performance. *BMC Plant Biology*, 25(1), 354.
- Dash, C., & Payyappilli, R. J. 2016. KOH string and Vancomycin susceptibility test as an alternative method to Gram staining. *Journal of International Medicine and Dentistry*, 3(2), 88-90.
- de Almeida Leite, R., Martins da Costa, E., Cabral Michel, D., do Amaral Leite, A., de Oliveira-Longatti, S. M., de Lima, W., ... & de Souza Moreira, F. M. 2024. Genomic insights into organic acid production and plant growth promotion by different species of phosphate-solubilizing bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 40(10), 311.
- de Angelis, G., Badiali, C., Chronopoulou, L., Palocci, C., & Pasqua, G. 2023. Confocal Microscopy Investigations of Biopolymeric PLGA Nanoparticle Uptake in *Arabidopsis thaliana* L. Cultured Cells and Plantlet Roots. *Plants*, 12(13), 2397.
- de Menezes Souza, J., de Menezes Fonseca, D., Pinheiro de Souza, J., Cordeiro do Nascimento, L., Mendes Hughes, F., Pereira Bezerra, J. D., ... & Ferreira-Silva, A. 2023. Cactus Endophytic Fungi and Bioprospecting for their Enzymes and Bioactive Molecules: A Systematic Review. *Chemistry & Biodiversity*, 20(12), e202301413.
- de Moraes, A. C. P., Kingsley, K. L., Ribeiro, L. D. S., Vigna, B. B. Z., Camargo, E. R. D., White, J. F., ... & Lacava, P. T. 2024. Beneficial Bacteria Associated With Silica Nanoparticles for Growth Promotion of *Paspalum notatum*. *Applied and Environmental Soil Science*, 2024(1), 9971370.
- Deng, X., Cao, E. H., Wu, C. Y., Liu, J. K., & Li, Q. F. 2013. Study on the effects of 8 strains on growth promotion and disease resistance of tomato (*Solanum lycopersicum*). *Advanced Materials Research*, 807, 1042-1045.
- DeRosa, M. C., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R., & Sultan, Y. 2010. Nanotechnology in fertilizers. *Nature nanotechnology*, 5(2), 91-91.

- Djanaguiraman, M., Anbazhagan, V., Dhankher, O. P., & Prasad, P. V. 2024. Uptake, Translocation, Toxicity, and Impact of Nanoparticles on Plant Physiological Processes. *Plants*, 13(22), 3137.
- Donoso, R., Leiva-Novoa, P., Zúñiga, A., Timmermann, T., Recabarren-Gajardo, G., & González, B. 2017. Biochemical and genetic bases of indole-3-acetic acid (auxin phytohormone) degradation by the plant-growth-promoting rhizobacterium *Paraburkholderia phytofirmans* PsJN. *Applied and environmental microbiology*, 83(1), e01991-16.
- Draou, N., Gharbi, S., Selami, N., Bokhari, H., & Kebaili, H. 2022. Effect of endophytic bacteria from Algerian prickly pear roots on wheat under drought stress. *Journal of Applied and Natural Science*, 14(2), 418-425.
- Dubey, A., Saiyam, D., Kumar, A., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., & Khan, M. L. 2021. Bacterial root endophytes: Characterization of their competence and plant growth promotion in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) under drought stress. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 931.
- Egamberdieva, D., Wirth, S. J., Shurigin, V. V., Hashem, A., Abd_Allah, E. F. 2017. Endophytic bacteria improve plant growth, symbiotic performance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and induce suppression of root rot caused by *Fusarium solani* under salt stress. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1887.
- Ehinmitan, E., Losenge, T., Mamati, E., Ngumi, V., Juma, P., & Siamalube, B. 2024. BioSolutions for Green Agriculture: Unveiling the Diverse Roles of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *International Journal of Microbiology*, 2024(1), 6181491.
- Eid, A. M., Fouda, A., Abdel-Rahman, M. A., Salem, S. S., Elsaied, A., Oelmüller, R., ... & Hassan, S. E. D. 2021. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. *Plants*, 10(5), 935.
- Eke, P., Kumar, A., Sahu, K. P., Wakam, L. N., Sheoran, N., Ashajyothi, M., ... & Fekam, F. B. 2019. Endophytic bacteria of desert cactus (*Euphorbia trigonas* Mill) confer drought tolerance and induce growth promotion in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Microbiological research*, 228, 126302.
- El-Beltagi, H. S., El-Waraky, E. A., El-Mogy, M. M., El-Nady, M. F., Ismail, A. M., Belal, E. B., ... & Metwaly, M. M. S. 2025. Microbial-priming of seeds with plant growth-promoting rhizobacteria and arbuscular mycorrhizal fungi for improving cotton (*Gossypium barbadense* L.) growth, yield and water productivity under drought stress. *Biologia*, 1-25.
- Elstner, E. F., & Heupel, A. 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammoniumchloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical biochemistry*, 70(2), 616-620.

- Etminani, F., & Harighi, B. 2018. Isolation and identification of endophytic bacteria with plant growth promoting activity and biocontrol potential from wild pistachio trees. *The plant pathology journal*, 34(3), 208.
- Ferrusquía-Jiménez, N. I., González-Arias, B., Rosales, A., Esquivel, K., Escamilla-Silva, E. M., Ortega-Torres, A. E., & Guevara-González, R. G. 2022. Elicitation of *Bacillus cereus*-Amazcala (Bc-A) with SiO₂ nanoparticles improves its role as a plant growth-promoting bacteria (PGPB) in chili pepper plants. *Plants*, 11(24), 3445.
- Finkel, O. M., Castrillo, G., Paredes, S. H., González, I. S., & Dangel, J. L. 2017. Understanding and exploiting plant beneficial microbes. *Current opinion in plant biology*, 38, 155-163.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., & Sharkey, T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant biology*, 6(03), 269-279.
- Fonseca-García, C., Coleman-Derr, D., Garrido, E., Visel, A., Tringe, S. G., & Partida-Martínez, L. P. 2016. The cacti microbiome: interplay between habitat-filtering and host-specificity. *Frontiers in microbiology*, 7, 150.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. *The future of food and agriculture: Trends and challenges*. Fao.
- Foyer, C. H., & Halliwell, B. 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133(1), 21-25.
- Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., & Shay, J. E. 2017. Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*, 5(4), 70.
- Galindo-Sotomonte, L., Jozefkowicz, C., Gómez, C., Stritzler, M., Frare, R., Bottero, E., & Soto, G. 2023. CRISPR/Cas9-mediated knockout of a polyester synthase-like gene delays flowering time in alfalfa. *Plant Cell Reports*, 42(5), 953-956.
- Gamalero, E., & Glick, B. R. 2015. Bacterial modulation of plant ethylene levels. *Plant physiology*, 169(1), 13-22.
- Ganie, S. A., Bhat, J. A., & Devoto, A. 2022. The influence of endophytes on rice fitness under environmental stresses. *Plant Molecular Biology*, 109(4), 447-467.
- Gao, X., Kundu, A., Persson, D. P., Szameitat, A., Minutello, F., Husted, S., & Ghoshal, S. 2023. Application of ZnO nanoparticles encapsulated in mesoporous silica on the abaxial side of a *Solanum lycopersicum* leaf enhances Zn uptake and translocation via the phloem. *Environmental Science & Technology*, 57(51), 21704-21714.6

- García-Pérez, L. G., Rincón-Molina, C. I., Martínez-Romero, E., Rogel, M. A., Tapia-Torres, Y., Manzano-Gómez, L. A., ... & Rincón-Rosales, R. 2024. Genomic Insights and Plant Growth-Promoting Potential of Rhizobial Strains from *Agave americana*. *Horticulturae*, 10(12), 1370.
- Garcia-Perez, L. G., Rincon-Molina, C. I., Ruiz-Valdiviezo, V. M., Gutierrez-Miceli, F. A., Cruz-Perez, N. H., Maldonado, J. J. V., Rincon-Rosales, R. 2015. Potential of Rhizobium strains isolated from *Agave americana* L. as Plant Growth Promoting Rhizobacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 9(3), 2017-2025.
- Garipova, S. R., Markova, O. V., Fedorova, K. A., Dedova, M. A., Iksanova, M. A., Kamaletdinova, A. A., ... & Pusenkova, L. I. 2022. Malondialdehyde and proline content in bean cultivars following the inoculation with endophytic bacteria. *Acta Physiologiae Plantarum*, 44(9), 89.
- Gautam, A., Ray, A., Mukherjee, S., Das, S., Pal, K., Das, S., ... & Ray, S. 2018. Immunotoxicity of copper nanoparticle and copper sulfate in a common Indian earthworm. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 620-631.
- Ge, Y., Schimel, J. P., & Holden, P. A. 2011. Evidence for negative effects of TiO₂ and ZnO nanoparticles on soil bacterial communities. *Environmental science & technology*, 45(4), 1659-1664.
- Glick, B. R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological research*, 169(1), 30-39.
- Gong, Y., Toivonen, P. M., Lau, O. L., & Wiersma, P. A. 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple is related to its browning disorder. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 42.
- Govindasamy, V., George, P., Ramesh, S. V., Sureshkumar, P., Rane, J., & Minhas, P. S. 2022. Characterization of root-endophytic actinobacteria from cactus (*Opuntia ficus-indica*) for plant growth promoting traits. *Archives of Microbiology*, 204(2), 150.
- Govindasamy, V., Rathi, M. S., & Paul, S. 2017. Evaluation of endophytic bacteria for their influence on plant growth and seed germination under water stress conditions. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 6(11), 4061-4067.
- Göksoy, A. T., & Turan, Z. M. 1991. Kuraklığın bitki morfolojisi ve fizyolojisi üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 8, 189-199.
- Gruber, F., Wollmann, P., Grähler, W., & Kaskel, S. 2018. Hyperspectral imaging using laser excitation for fast Raman and fluorescence hyperspectral imaging for sorting and quality control applications. *Journal of imaging*, 4(10), 110.
- Guajardo, E., Correa, J. A., & Contreras-Porcia, L. 2016. Role of abscisic acid (ABA) in activating antioxidant tolerance responses to desiccation stress in intertidal seaweed species. *Planta*, 243, 767-781.

- Gull, A., Lone, A. A., & Wani, N. U. I. 2019. Biotic and abiotic stresses in plants. In *Abiotic and biotic stress in plants*. IntechOpen.
- Guo, J., Chen, Y., Lu, P., Liu, M., Sun, P., & Zhang, Z. 2021. Roles of endophytic bacteria in *Suaeda salsa* grown in coastal wetlands: Plant growth characteristics and salt tolerance mechanisms. *Environmental Pollution*, 287, 117641.
- Gupta, A., Rai, S., Bano, A., Sharma, S., Kumar, M., Binsuwaidan, R., ... & Pathak, N. 2022. ACC deaminase produced by PGPR mitigates the adverse effect of osmotic and salinity stresses in *Pisum sativum* through modulating the antioxidants activities. *Plants*, 11(24), 3419.
- Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., ... & Song, W. 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Systematic and applied microbiology*, 28(1), 66-76.
- Hardiansyah, M. Y., Musa, Y., & Jaya, A. M. 2020. Identification of plant growth promoting rhizobacteria from thorny bamboo rhizosphere with 3% KOH gram test and gram staining test. *International Journal of Applied Biology*, 4(2), 7-17.
- Hardoim, P. R., van Overbeek, L. S., & van Elsas, J. D. 2008. Properties of bacterial endophytes and their proposed role in plant growth. *Trends in microbiology*, 16(10), 463-471.
- Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Parvin, K., Bhuiyan, T. F., Anee, T. I., Nahar, K., ... & Fujita, M. 2020. Regulation of ROS metabolism in plants under environmental stress: A review of recent experimental evidence. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8695.
- Hawker, D. W., & Connell, D. W. 1985. Relationships between partition coefficient, uptake rate constant, clearance rate constant and time to equilibrium for bioaccumulation. *Chemosphere*, 14(9), 1205-1219.
- Hazarika, S. N., Saikia, K., Borah, A., & Thakur, D. 2021. Prospecting endophytic bacteria endowed with plant growth promoting potential isolated from *Camellia sinensis*. *Front Microbiol* 12: 738058.
- Hiruma, K. 2019. Plant interactions with parasitic and beneficial Colletotrichum fungi under changing environmental conditions. *Journal of General Plant Pathology*, 85(6), 468-470.
- Honma, M., & Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(10), 1825-1831.
- Hosseini, F., Mosaddeghi, M. R., Dexter, A. R., & Sepehri, M. 2018. Maize water status and physiological traits as affected by root endophytic fungus *Piriformospora indica* under combined drought and mechanical stresses. *Planta*, 247, 1229-1245.
- Hussain, S., Rao, M. J., Anjum, M. A., Ejaz, S., Zakir, I., Ali, M. A., ... & Ahmad, S. 2019. Oxidative stress and antioxidant defense in plants under drought

conditions. *Plant abiotic stress tolerance: Agronomic, molecular and biotechnological approaches*, 207-219.

Hwang, H. H., Huang, Y. T., Chien, P. R., Huang, F. C., Wu, C. L., Chen, L. Y., ... & Huang, C. C. 2025. A plant endophytic bacterium *Burkholderia seminalis* strain 869T2 increases plant growth under salt stress by affecting several phytohormone response pathways. *Botanical Studies*, 66(1), 7.

IBM Corp. 2020. *IBM SPSS Statistics for Windows, Version 27.0*. Armonk, NY: IBM Corp.

Ilyas, N., Mumtaz, K., Akhtar, N., Yasmin, H., Sayyed, R. Z., Khan, W., ... & Ali, Z. 2020. Exopolysaccharides producing bacteria for the amelioration of drought stress in wheat. *Sustainability*, 12(21), 8876.

Ivask, A., Virta, M., & Kahru, A. 2002. Construction and use of specific luminescent recombinant bacterial sensors for the assessment of bioavailable fraction of cadmium, zinc, mercury and chromium in the soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 34(10), 1439-1447.

Jacques, C., Salon, C., Barnard, R. L., Vernoud, V., & Prudent, M. 2021. Drought stress memory at the plant cycle level: A review. *Plants*, 10(9), 1873.

Jarin, A. S., Islam, M. M., Rahat, A., Ahmed, S., Ghosh, P., & Murata, Y. 2024. Drought stress tolerance in rice: Physiological and biochemical insights. *International Journal of Plant Biology*, 15(3), 692-718.

Jaron, D., & Galal, O. 2009. Food security and population health and well being. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 18(4), 684-687.

Jasim, B., John Jimtha, C., Jyothis, M., Radhakrishnan, E. K. 2013. Plant growth promoting potential of endophytic bacteria isolated from *Piper nigrum*. *Plant growth regulation*, 71(1), 1-11.

Jayakumar, A., Krishna, A., Nair, I. C., & Radhakrishnan, E. K. 2020. Drought-tolerant and plant growth-promoting endophytic *Staphylococcus* sp. having synergistic effect with silicate supplementation. *Archives of Microbiology*, 202(7), 1899-1906.

Jiang, J., Sun, M., Li, Z., Feng, D., & Ye, S. 2025. Antagonistic *Variovorax* sp. R1 affects sugar metabolism, respiration, and antioxidant capacity of harvested cucumber. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 1-13.

Jimtha, J. C., Smitha, P. V., Anisha, C., Deepthi, T., Meekha, G., Radhakrishnan, E. K., Remakanthan, A. 2014. Isolation of endophytic bacteria from embryogenic suspension culture of banana and assessment of their plant growth promoting properties. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 118(1), 57-66.

- Juby, S., Krishnankutty, R. E., & Kochupurakkal, J. 2023. Drought-alleviating effects of endophytic bacteria isolated from xerophytic plants on *Capsicum annuum* L. seedlings. *Current Microbiology*, 80(12), 403.
- Kadam, N. N., Xiao, G., Melgar, R. J., Bahuguna, R. N., Quinones, C., Tamilselvan, A., ... & Jagadish, K. S. 2014. Agronomic and physiological responses to high temperature, drought, and elevated CO₂ interactions in cereals. *Advances in agronomy*, 127, 111-156
- Kah, M., Kookana, R. S., Gogos, A., & Bucheli, T. D. 2018. A critical evaluation of nanopesticides and nanofertilizers against their conventional analogues. *Nature nanotechnology*, 13(8), 677-684.
- Kálmán, C. D., Nagy, Z., Berényi, A., Kiss, E., & Posta, K. 2023. Investigating PGPR bacteria for their competence to protect hybrid maize from the factor drought stress. *Cereal Research Communications*, 1-22.
- Kamyab, A., Samsampour, D., Ahmadinasab, N., & Bagheri, A. 2024. The combination of nanoparticles and endophytes boosts Thyme (*Thymus vulgaris* L.) resistance to drought stress by elevating levels of phenolic compounds, flavonoids, and essential oils. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 11(1), 163.
- Kang, J., Peng, Y., & Xu, W. 2022. Crop root responses to drought stress: molecular mechanisms, nutrient regulations, and interactions with microorganisms in the rhizosphere. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9310.
- Kanwal, S., Ilyas, N., Batool, N., & Arshad, M. 2017. Amelioration of drought stress in wheat by combined application of PGPR, compost, and mineral fertilizer. *Journal of Plant Nutrition*, 40(9), 1250-1260.
- Kapilan, R., Vaziri, M., & Zwiazek, J. J. 2018. Regulation of aquaporins in plants under stress. *Biological research*, 51, 1-11.
- Karakaş, İ., Ay, M., Öztürk, F., Kaya, S., & Hacıoğlu, N. 2022. Nikelce zengin topraklardan (Çanakkale) izole edilen bakterilerin bitki büyüme teşvik edici potansiyellerinin belirlenmesi. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 9(2), 424-431.
- Kaya, C., Aydemir, S., Sonmez, O., Ashraf, M., & Dikilitas, M. 2013. Regulation of growth and some key physiological processes in salt-stressed maize (*Zea mays* L.) plants by exogenous application of asparagine and glycerol. *Acta Botanica Croatica*, 72(1), 157-168.
- Kelbessa, B. G., Dubey, M., Catara, V., Ghadamgahi, F., Ortiz, R., & Vetukuri, R. R. 2023. Potential of plant growth-promoting rhizobacteria to improve crop productivity and adaptation to a changing climate. *CABI Reviews*, (2023).
- Khalofah, A., Khan, M. Q. N., & Hayat, H. S. 2025. Mitigation Potential of Green-Zinc Oxide Nanoparticles for Nickel (Ni) Stress in Watermelon Plants: Regulation of

Cellular Oxidative Stress Metabolism and Reduction in Ni Translocation. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-16.

- Khan, D., Harris, A. J., Zaman, Q. U., Wang, H. X., Wen, J., Landis, J. B., & Wang, H. F. 2024. The evolutionary history and distribution of cactus germplasm resources, as well as potential domestication under a changing climate. *Journal of Systematics and Evolution*, 62(5), 858-875.
- Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian journal of chemistry*, 12(7), 908-931.
- Khan, K. S., Qadir, M. F., Ahmad, A., Naveed, M., Raza, T., & Ditta, A. 2022. Efficacy of different endophytic bacterial strains in enhancing growth, yield, and physiological and biochemical attributes of *Linum usitatissimum* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(4), 4365-4376.
- Khan, P., Abdelbacki, A. M., Albaqami, M., Jan, R., & Kim, K. M. 2025. Proline Promotes Drought Tolerance in Maize. *Biology*, 14(1), 41.
- Khan, S., Basit, A., Hafeez, M. B., Irshad, S., Bashir, S., Bashir, S., ... & Li, Y. 2021. Moringa leaf extract improves biochemical attributes, yield and grain quality of rice (*Oryza sativa* L.) under drought stress. *Plos one*, 16(7), e0254452.
- Khan, S., Irshad, S., Mehmood, K., Hasnain, Z., Nawaz, M., Rais, A., ... & Ibrar, D. 2024. Biochar production and characteristics, its impacts on soil health, crop production, and yield enhancement: A review. *Plants*, 13(2), 166.
- Khianngam, S., Meetum, P., Chiangmai, P. N., & Tanasupawat, S. 2023. Identification and optimisation of indole-3-acetic acid production of endophytic bacteria and their effects on plant growth. *Tropical life sciences research*, 34(1), 219.
- Khoso, M. A., Wagan, S., Alam, I., Hussain, A., Ali, Q., Saha, S., ... & Liu, F. 2024. Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective. *Plant Stress*, 11, 100341.
- Kızılgöçü, F., Tazebay, N., Namlı, M., Albayrak, Ö., & Yıldırım, M. (2017). The drought effect on seed germination and seedling growth in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 1(1), 33-37.
- Kim, D. R., & Kwak, Y. S. 2023. Endophytic *Streptomyces* population induced by L-glutamic acid enhances plant resilience to abiotic stresses in tomato. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1180538.
- Kim, T. J., & Lim, G. H. 2023. Salicylic acid and mobile regulators of systemic immunity in plants: transport and metabolism. *Plants*, 12(5), 1013.
- Klement, Z., Rudolph, K., & Sands, D. C. (Eds.). 1990. *Methods in phytobacteriology* (pp. 568-pp).

- Kohler, J., Hernández, J. A., Caravaca, F., & Roldán, A. 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 65(2-3), 245-252.
- Kottegoda, N., Munaweera, I., Madusanka, N., & Karunaratne, V. 2011. A green slow-release fertilizer composition based on urea-modified hydroxyapatite nanoparticles encapsulated wood. *Current science*, 73-78.
- Kukreti, B., Chaudhary, P., & Sharma, A. 2024. Visualization of synergistic interaction between inorganic nanoparticle and bioinoculants. *Vegetos*, 1-9.
- Kumar, M., Sharma, S., Gupta, S., & Kumar, V. 2018. Mitigation of abiotic stresses in *Lycopersicon esculentum* by endophytic bacteria. *Environmental sustainability*, 1, 71-80.
- Kumar, S., Korra, T., Thakur, R., Arutselvan, R., Kashyap, A. S., Nehela, Y., ... & Keswani, C. 2023. Role of plant secondary metabolites in defence and transcriptional regulation in response to biotic stress. *Plant stress*, 8, 100154.
- Kumari, R., Poonar, N., Sharma, S., Yadav, A., Kumari, S., & Poonar, N. 2023. Isolation and Biochemical Characterization of Endophytic Bacteria Associated with Roots of *Salvadora oleoides*. *The Journal of Plant Science Research*, 39(1), 49-56.
- Kuramshina, Z. M., & Khairullin, R. M. 2023. Endophytic strains of *Bacillus subtilis* promote drought resistance of plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 70(3), 45.
- Lacava, P. T., Silva-Stenico, M. E., Araújo, W. L., Simionato, A. V. C., Carrilho, E., Tsai, S. M., & Azevedo, J. L. 2008. Detection of siderophores in endophytic bacteria *Methylobacterium* spp. associated with *Xylella fastidiosa* subsp. pauca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43, 521-528.
- Lahrizi, Y., Oukaltouma, K., Mouradi, M., Farissi, M., Qaddoury, A., Bouizgaren, A., & Ghoulam, C. 2021. Seed biopriming with osmo-tolerant rhizobacteria enhances the tolerance of alfalfa (*Medicago sativa* L.)-rhizobia symbiosis to water deficit. *Appl. Ecol. Environ. Res*, 19(10.15666).
- Lanna-Filho, R., Souza, R. M., & Alves, E. 2017. Induced resistance in tomato plants promoted by two endophytic bacilli against bacterial speck. *Tropical Plant Pathology*, 42, 96-108.
- Lata, R., Chowdhury, S., & Gond, S. K. 2024. Functional characterization of endophytic bacteria isolated from feather grass (*Chloris virgata* Sw.). *Grass Research*, 4(1).
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., & Dietz, K. J. 2019. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*, 8(4), 94.
- Lehmann, J., & Kleber, M. 2015. The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528(7580), 60-68.

- Li, S., Li, P., Ding, H., Zhao, S., Ai, J., Wei, G., & Li, Z. 2025. Rhizosphere bacterial community confers drought tolerance to *Astragalus mongholicus*. *Agricultural Water Management*, 315, 109543.
- Li, Y., Wei, S., Chen, X., Dong, Y., Zeng, M., Yan, C., ... & Jiao, R. 2023. Isolation of cadmium-resistance and siderophore-producing endophytic bacteria and their potential use for soil cadmium remediation. *Heliyon*, 9(7).
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., & Becker, D. F. 2013. Proline mechanisms of stress survival. *Antioxidants & redox signaling*, 19(9), 998-1011.
- Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents.
- Liu, C., Bai, Z., Luo, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Liu, H., ... & Li, N. 2024. Multiomics dissection of *Brassica napus* L. lateral roots and endophytes interactions under phosphorus starvation. *Nature Communications*, 15(1), 9732.
- Liu, K., Deng, F., Zeng, F., Chen, Z. H., Qin, Y., & Chen, G. 2025. Plant growth-promoting rhizobacteria improve drought tolerance of crops: a review. *Plant Growth Regulation*, 1-15.
- Liu, Q., Chen, B., Wang, Q., Shi, X., Xiao, Z., Lin, J., & Fang, X. 2009. Carbon nanotubes as molecular transporters for walled plant cells. *Nano letters*, 9(3), 1007-1010.
- Liu, R., & Lal, R. 2014. Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). *Scientific reports*, 4(1), 5686.
- Lozano-González, J. M., Valverde, S., Montoya, M., Martín, M., Rivilla, R., Lucena, J. J., & López-Rayó, S. 2023. Evaluation of siderophores generated by *Pseudomonas* bacteria and their possible application as Fe biofertilizers. *Plants*, 12(23), 4054.
- Lubyanova, A. R., Allagulova, C. R., & Lastochkina, O. V. 2023. The effects of seed pretreatment with endophytic bacteria *Bacillus subtilis* on the water balance of spring and winter wheat seedlings under short-time water deficit. *Plants*, 12(14), 2684.
- Lushchak, V. I. 2011. Adaptive response to oxidative stress: Bacteria, fungi, plants and animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 153(2), 175-190.
- Marulanda, A., Barea, J. M., & Azcón, R. 2009. Stimulation of plant growth and drought tolerance by native microorganisms (AM fungi and bacteria) from dry environments: mechanisms related to bacterial effectiveness. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28, 115-124.
- Mastronardi, E., Tsae, P., Zhang, X., Monreal, C., & DeRosa, M. C. 2015. Strategic role of nanotechnology in fertilizers: potential and limitations. *Nanotechnologies in food and agriculture*, 25-67.

- Mattoo, A. J., & Nonzom, S. 2021. Endophytic fungi: Understanding complex cross-talks. *Symbiosis*, 83(3), 237-264.
- Meenakshi, Annapurna, K., Govindasamy, V., Ajit, V., & Choudhary, D. K. 2019. Mitigation of drought stress in wheat crop by drought tolerant endophytic bacterial isolates. *Vegetos*, 32(4), 486-493.
- Mehrasa, H., Farnia, A., Kenarsari, M. J., & Nakhjavan, S. 2022. Endophytic bacteria and SA application improve growth, biochemical properties, and nutrient uptake in white beans under drought stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 22(3), 3268-3279.
- Miller, G. A. D., Suzuki, N., Ciftci-Yilmaz, S., Mittler, R. O. N. 2010. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses. *Plant, cell & environment*, 33(4), 453-467.
- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical chemistry*, 31(3), 426-428.
- Mishra, B. S., Sharma, M., & Laxmi, A. 2022. Role of sugar and auxin crosstalk in plant growth and development. *Physiologia Plantarum*, 174(1), e13546.
- Mishra, N., Jiang, C., Chen, L., Paul, A., Chatterjee, A., & Shen, G. 2023. Achieving abiotic stress tolerance in plants through antioxidative defense mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1110622.
- Mittler, R., Zandalinas, S. I., Fichman, Y., & Van Breusegem, F. 2022. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses. *Nature reviews Molecular cell biology*, 23(10), 663-679.
- Monteiro, S. S., Almeida, R. L., Santos, N. C., Pereira, E. M., Silva, A. P., Oliveira, H. M. L., & Pasquali, M. A. D. B. 2023. New functional foods with cactus components: Sustainable perspectives and future trends. *Foods*, 12(13), 2494.
- Moon, Y. S., & Ali, S. 2022. A fruitful decade of bacterial ACC deaminase biotechnology: A pragmatic approach towards abiotic stress relief in plants. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 34(2), 109-129.
- Mori, Y. 2015. Functional polymeric membrane in agriculture. *Functional Polymers in Food Science: From Technology to Biology*, 33-45.
- Moturu, S. R., Kumar, A., & Singh, R. 2025. Identification and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from maize rhizosphere. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 1234-1245.
- Muller, C. D., Machado, A. B., dos Santos Bruschi, L. F. R., de Souza Okada, A. M., Suyenaga, E. S., Carone, C. L. P., ... & Feksa, L. R. 2017. A review of the perspectives of nanotechnology in agriculture and environment. *Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas*, 18(3), 499-514.

- Mura, S., & Couvreur, P. (Eds.). 2016. *Nanotheranostics for personalized medicine*. World Scientific.
- Murashige, T., & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3).
- Muthu Narayanan, M., Ahmad, N., Shivanand, P., & Metali, F. 2022. The role of endophytes in combating fungal-and bacterial-induced stress in plants. *Molecules*, 27(19), 6549.
- Nagah, A., El-Sheekh, M. M., Arief, O. M., Alqahtani, M. D., Alharbi, B. M., & Dawwam, G. E. 2024. Endophytic *Bacillus vallismortis* and *Bacillus tequilensis* bacteria isolated from medicinal plants enhance phosphorus acquisition and fortify *Brassica napus* L. vegetative growth and metabolic content. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1324538.
- Nakagami, S., Wang, Z., Han, X., & Tsuda, K. 2024. Regulation of Bacterial Growth and Behavior by Host Plant. *Annual Review of Phytopathology*, 62.
- Nakano, Y., & Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
- Nap, J. P., & Bisseling, T. 1990. The roots of nodulins. *Physiologia Plantarum*, 79(2), 407-414.
- Ngumbi, E., & Kloepper, J. 2016. Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, 109-125.
- Nobel, P. S. (2003). *Environmental biology of agaves and cacti*. Cambridge University Press.
- Nong, Q., Lin, L., Xie, J., Mo, Z., Malviya, M. K., Solanki, M. K., ... & Li, C. 2023. Regulation of an endophytic nitrogen-fixing bacteria GXS16 promoting drought tolerance in sugarcane. *BMC Plant Biology*, 23(1), 573.
- Nour, M. M., Aljabi, H. R., AL-Huqail, A. A., Horneburg, B., Mohammed, A. E., & Alotaibi, M. O. 2024. Drought responses and adaptation in plants differing in life-form. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 12, 1452427.
- Nuruzzaman, M. D., Rahman, M. M., Liu, Y., & Naidu, R. 2016. Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: a new window for safe application. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(7), 1447-1483.
- Ortega-Baes, P., Sührling, S., Sajama, J., Sotola, E., Alonso-Pedano, M., Bravo, S., & Godínez-Alvarez, H. 2009. Diversity and conservation in the cactus family. In *Desert plants: Biology and biotechnology* (pp. 157-173). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

- Özkurt, M., Saygılı, İ., & Dirik, K. Ö. 2019. Bazı Yonca Çeşitlerinin Erken Gelişme Dönemindeki Kuraklık Toleransının Belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(4), 557-562.
- Pal, K. K., Dey, R., Sherathia, D. N., Devidayal, Mangalassery, S., Kumar, A., ... & Radhakrishnan, T. 2021. Alleviation of salinity stress in peanut by application of endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 12, 650771.
- Pallucchini, M., Franchini, M., El-Ballat, E. M., Narraidoo, N., Pointer-Gleadhill, B., Palframan, M. J., ... & Hill, P. J. 2024. *Gluconacetobacter diazotrophicus* AZ0019 requires functional nifD gene for optimal plant growth promotion in tomato plants. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1469676.
- Pathak, P., Rai, V. K., Can, H., Singh, S. K., Kumar, D., Bhardwaj, N., ... & Kumar, A. 2022. Plant-endophyte interaction during biotic stress management. *Plants*, 11(17), 2203.
- Penrose, D. M., & Glick, B. R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia plantarum*, 118(1), 10-15.
- Perez-Rosales, E., Alcaraz-Meléndez, L., Puente, M. E., Vázquez-Juárez, R., Zenteno-Savín, T., & Morales-Bojórquez, E. 2018. Endophytic bacteria isolated from wild jojoba [*Simmondsia chinensis* L.(Schneider)] roots improve in vitro propagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 135, 515-522.
- Pilon, C., Snider, J. L., Sobolev, V., Chastain, D. R., Sorensen, R. B., Meeks, C. D., ... & Earl, H. J. 2018. Assessing stomatal and non-stomatal limitations to carbon assimilation under progressive drought in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of plant physiology*, 231, 124-134.
- Pinski, A., Betekhtin, A., Hupert-Kocurek, K., Mur, L. A., & Hasterok, R. (2019). Defining the genetic basis of plant–endophytic bacteria interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(8), 1947.
- Poggi, G. M., Corneti, S., Aloisi, I., & Ventura, F. 2024. Phenotypic variability for early drought stress resistance in tetraploid wheat accessions correlates with terminal drought performance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 210(2), e12691.
- Pupakdeepan, W., Termsung, N., Ruangwong, O. U., & Kunasakdakul, K. 2023. Plant growth promoting and colonization of endophytic *Streptomyces albus* CINv1 against strawberry anthracnose. *Horticulturae*, 9(7), 766.
- Qiao, M., Hong, C., Jiao, Y., Hou, S., & Gao, H. 2024. Impacts of drought on photosynthesis in major food crops and the related mechanisms of plant responses to drought. *Plants*, 13(13), 1808.
- Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A., & Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in

- tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta biologica Cracoviensia. Series botânica*, 53(1).
- Rani, S., Kumar, P., Dahiya, P., Maheshwari, R., Dang, A. S., & Suneja, P. 2022. Endophytism: A Multidimensional approach to plant–prokaryotic microbe interaction. *Frontiers in Microbiology*, 13, 861235.
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H. M., He, X., Mbarki, S., & Brestic, M. 2017. Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review. *Frontiers in chemistry*, 5, 78.
- Ravanbakhsh, M., Sasidharan, R., Voesenek, L. A., Kowalchuk, G. A., & Jousset, A. 2018. Microbial modulation of plant ethylene signaling: ecological and evolutionary consequences. *Microbiome*, 6, 1-10.
- Reinhold-Hurek, B., & Hurek, T. 2011. Living inside plants: bacterial endophytes. *Current opinion in plant biology*, 14(4), 435-443.
- Riduan, A., Santoso, D., & Sudarsono, S. 2024. Response of transgenic tobacco with P5CS gene expression to polyethylene glycol-induced drought stress. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(10).
- Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. 2011. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(8), 3485-3498.
- Rolls, G.O., Farmer N.J., Hall J.B. 2012. Melbourne (Australia): Leica Biosystems Pty LTD. Artefacts in Histological and Cytological Preparations, p 106.
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. 2008. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS microbiology letters*, 278(1), 1-9.
- Sadasivam, S., & Manickam, A. (1992). *Biochemical methods for agricultural sciences*. Wiley eastern limited.
- Sah, S. K., Reddy, K. R., & Li, J. (2016). Absciscic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Frontiers in plant science*, 7, 571.
- Sahu, P. K., Jayalakshmi, K., Tilgam, J., Gupta, A., Nagaraju, Y., Kumar, A., ... & Rajawat, M. V. S. 2022. ROS generated from biotic stress: Effects on plants and alleviation by endophytic microbes. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1042936.
- Samanta, S., Seth, C. S., & Roychoudhury, A. 2024. The molecular paradigm of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) with different phytohormone signaling pathways during drought stress in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 206, 108259.

- Santos, G. 2017. Road transport and CO₂ emissions: What are the challenges?. *Transport Policy*, 59, 71-74.
- Schwyn, B., Neilands, J. B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical biochemistry*, 160(1), 47-56.
- Scognamiglio, V., Rea, G., Arduini, F., & Palleschi, G. 2016. *Biosensors for sustainable food-new opportunities and technical challenges* (Vol. 74). Elsevier.
- Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., & Battaglia, M. L. 2021. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. *Plants*, 10(2), 259.
- Sen, B., Roy, D., Narayan, M., & Sarma, H. 2025. Nanoparticle-driven stress alleviation: exploring the roles of metal and metal oxide nanoparticles in plant abiotic stress management. *Discover Plants*, 2(1), 74.
- Seth, P., Sebastian, J. 2024. Plants and global warming: challenges and strategies for a warming world. *Plant Cell Reports*, 43(1), 27.
- Shaffique, S., Hussain, S., Kang, S. M., Imran, M., Injamum-Ul-Hoque, M., Khan, M. A., & Lee, I. J. 2023. Phytohormonal modulation of the drought stress in soybean: Outlook, research progress, and cross-talk. *Frontiers in plant science*, 14, 1237295.
- Shah, D., Khan, M. S., Aziz, S., Ali, H., & Pecoraro, L. 2021. Molecular and biochemical characterization, antimicrobial activity, stress tolerance, and plant growth-promoting effect of endophytic bacteria isolated from wheat varieties. *Microorganisms*, 10(1), 21.
- Shakir, M. A., Bano, A., & Arshad, M. 2012. Short Communciation Rhizosphere bacteria containing ACC-deaminase conferred drought tolerance in wheat grown under semi-arid climate. *Soil & Environment*, 31(1).
- Shalovylo, D., Wirth, S. J., Shurigin, V. V., Hashem, A., Abd_Allah, E. F. 2024. Metabolic profile and molecular characterization of endophytic bacteria isolated from *Pinus sylvestris* L. with growth-promoting effect on sunflower. *Frontiers in Microbiology*, 15, 123456.
- Simsek Geyik, M., Efe, D., & Gormez, A. 2024. Identification of Bacteria Producing Red Pigments and Their Application in the Textile Industry. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 1-10.
- Singh, K. M., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Sharma, P. 2025. Nanoparticle-mediated mitigation of salt stress-induced oxidative damage in plants: insights into signaling, gene expression, and antioxidant mechanisms. *Environmental Science: Nano*.
- Singh, R., Cheng, S., & Singh, S. 2020. Oxidative stress-mediated genotoxic effect of zinc oxide nanoparticles on *Deinococcus radiodurans*. *3 Biotech*, 10(2), 66.

- Singh, R., Singh, S., Parihar, P., Mishra, R. K., Tripathi, D. K., Singh, V. P., ... & Prasad, S. M. 2016. Reactive oxygen species (ROS): beneficial companions of plants' developmental processes. *Frontiers in plant science*, 7, 1299.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J. and Klenk, D. C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150(1): 76-85.
- Sofy, M. R., Aboseidah, A. A., Heneidak, S. A., & Ahmed, H. R. 2021. ACC deaminase containing endophytic bacteria ameliorate salt stress in *Pisum sativum* through reduced oxidative damage and induction of antioxidative defense systems. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 40971-40991.
- Sriram, K. P., Mangrolia, U., & Osborne, W. J. 2020. Isolation and characterization of culturable indigenous endophytic bacteria in the tender coconut. *Food Biotechnology*, 34(3), 228-242.
- Steinkellner, S., Lendzemo, V., Langer, I., Schweiger, P., Khaosaad, T., Toussaint, J. P., & Vierheilig, H. 2007. Flavonoids and strigolactones in root exudates as signals in symbiotic and pathogenic plant-fungus interactions. *Molecules*, 12(7), 1290-1306.
- Sun TianYin, S. T., Bornhöft, N. A., Hungerbühler, K., & Nowack, B. 2016. Dynamic probabilistic modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials.
- Şelem, E., Nohutçu, L., Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M. 2021. Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakteri Uygulamalarının Kuraklık Stresi Koşullarında Yetiştirilen Aynısafa (*Calendula officinalis* L.) Bitkisinin Bazı Büyüme Parametreleri ile Fizyolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. *Yüzuncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31(4), 886-897.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. 2015. Plant physiology and Development.
- Takezawa, D., Komatsu, K., & Sakata, Y. 2011. ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone?. *Journal of Plant Research*, 124, 437-453.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Tang, G., Du, L., Su, X. 2013. Detection of melamine based on the fluorescence resonance energy transfer between CdTe QDs and Rhodamine B. *Food Chemistry*, 141(4), 4060-4065.
- Telek, Ü., Akıncı, İ. E., & Küsek, M. 2019. Rhizobakteri İzolatlarının Kırmızı Biberin (*Capsicum annuum* L.) Verim ve Bitkisel Özellikleri Üzerine Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi* 22(1), 62-70.

- Thanwisai, L., Tran, H. T. K., Siripornadulsil, W., & Siripornadulsil, S. 2022. A cadmium-tolerant endophytic bacterium reduces oxidative stress and Cd uptake in KDML105 rice seedlings by inducing glutathione reductase-related activity and increasing the proline content. *Plant Physiology and Biochemistry*, 192, 72-86.
- Thiagarajan, V., & Ramasubbu, S. 2021. Fate and behaviour of TiO₂ nanoparticles in the soil: their impact on staple food crops. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(7), 274.
- Tiryaki, O. 2016. Bitki Sağlığı ve Gıda Güvenliği. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 4(2), 65-74.
- Tripathi, D. K., Singh, S., Singh, S., Mishra, S., Chauhan, D. K., & Dubey, N. K. 2015. Micronutrients and their diverse role in agricultural crops: advances and future prospective. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37, 1-14.
- Ucak, A. B., & Arslan, H. 2023. Drought stress resistance indicators of chickpea varieties grown under deficit irrigation conditions. *PeerJ*, 11, e14818.
- Ulker, E., YÜKSEL, O., & ERGÜL, S. 2020. Ülkemizde Yem Bitkileri Tarımının Durumu, Tohumluk Üretimi ve Dış Ticareti. *Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 4(2), 127-138.
- Ullah, A., Nisar, M., Ali, H., Hazrat, A., Hayat, K., Keerio, A. A., ... & Yang, X. 2019. Drought tolerance improvement in plants: an endophytic bacterial approach. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103, 7385-7397
- Umar, O. B., Ranti, L. A., Abdulbaki, A. S., Bola, A. U. L., Abdulhamid, A. K., Biola, M. R., & Victor, K. O. 2021. Stresses in plants: Biotic and abiotic. In *Current trends in wheat research*. IntechOpen.
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S. A., ur Rehman, H., ... & Sanaullah, M. 2020. Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities. *Science of the total environment*, 721, 137778.
- Varshney, R. K., Singh, V. K., Kumar, A., Powell, W., & Sorrells, M. E. 2018. Can genomics deliver climate-change ready crops?. *Current opinion in plant biology*, 45, 205-211.
- Verma, P. R. I. Y. A., Saxena, R., & Tomar, R. S. 2016. Rhizobacteria: A promising tool for drought tolerance in crop plants. *International Journal of Pahrma and Bio Science (Int-BIONANO-2016)*, 116- 125.
- Vijayakumar, M. D., Surendhar, G. J., Natrayan, L., Patil, P. P., Ram, P. B., & Paramasivam, P. 2022. Evolution and recent scenario of nanotechnology in agriculture and food industries. *Journal of Nanomaterials*, 2022(1), 1280411.
- Vimal, S. R., Singh, J. S., & Prasad, S. M. 2023. Prospective of indole-3-actaic acid (IAA) and endophytic microbe *Bacillus subtilis* strain SSA4 in paddy seedlings

- development and ascorbate–glutathione (AsA-GSH) cycle regulation to mitigate NaCl toxicity. *Molecular Biotechnology*, 1-16.
- Wallington, E. A. 1979. Artifacts in tissue sections. *Medical Laboratory Sciences*, 36(1), 3-61.
- Wang, G., Yang, X., & Xue, X. 2024. Transgenic Tobacco with the BADH Gene Shows Enhanced Photosynthesis Resistance to Drought Stress Induced by PEG-6000. *Agronomy*, 14(4), 690.
- Wang, H., Xin, J., Zhang, X., & Jiang, S. (2025). Identification and Functional Analysis of Endophytic Bacteria *Bacillus cereus* in *Sphagnum palustre*. *Plants*, 14(10), 1476.
- Wang, Q., Ge, C., Xu, S. A., Wu, Y., Sahito, Z. A., Ma, L., ... & Yang, X. 2020. The endophytic bacterium *Sphingomonas* SaMR12 alleviates Cd stress in oilseed rape through regulation of the GSH-AsA cycle and antioxidative enzymes. *BMC Plant Biology*, 20, 1-14.
- Wang, S., Ji, B., Su, X., Li, H., Dong, C., Chen, S., ... & Feng, W. 2020. "Isolation of endophytic bacteria from *Rehmannia glutinosa* Libosch and their potential to promote plant growth ". *The Journal of General and Applied Microbiology*, 66(5), 279-288.
- Win, K. T., Tanaka, F., Okazaki, K., & Ohwaki, Y. 2018. The ACC deaminase expressing endophyte *Pseudomonas* spp. enhances NaCl stress tolerance by reducing stress-related ethylene production, resulting in improved growth, photosynthetic performance, and ionic balance in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 127, 599-607.
- Wu, S., Lu, Y. C., McMurtrey, J. E., Weesies, G., Devine, T. E., & Foster, G. R. 2004. Soil conservation benefits of large biomass soybean (LBS) for increasing crop residue cover. *Journal of Sustainable Agriculture*, 24(1), 107-128.
- Yang, H. R., Yuan, J., Liu, L. H., Zhang, W., Chen, F., & Dai, C. C. 2019. Endophytic *Pseudomonas fluorescens* induced sesquiterpenoid accumulation mediated by gibberellic acid and jasmonic acid in *Atractylodes macrocephala* Koidz plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 138, 445-457.
- Yang, X., Lu, M., Wang, Y., Wang, Y., Liu, Z., & Chen, S. 2021. Response mechanism of plants to drought stress. *Horticulturae*, 7(3), 50.
- Yee, Y., Tam, N.F.Y., Wong, Y. S., Lu, C. Y. 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorrhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environ. Exp. Bot.*, 1-13.
- Yordanova, R. Y., Christov, K. N., Popova L. P. 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environ. Exp. Bot.*, 51, 93-101.

- Yu, Y., Gui, Y., Li, Z., Jiang, C., Guo, J., & Niu, D. 2022. Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes. *Plants*, 11(3), 386.
- Zhang, A., Liu, M., Gu, W., Chen, Z., Gu, Y., Pei, L., & Tian, R. 2021. Effect of drought on photosynthesis, total antioxidant capacity, bioactive component accumulation, and the transcriptome of *Atractylodes lancea*. *BMC plant biology*, 21(1), 293.
- Zhang, H., Zhu, J., Gong, Z., & Zhu, J. K. 2022. Abiotic stress responses in plants. *Nature Reviews Genetics*, 23(2), 104-119.
- Zhang, P., Ma, Y., & Zhang, Z. 2015. Interactions between engineered nanomaterials and plants: phytotoxicity, uptake, translocation, and biotransformation. *Nanotechnology and plant sciences: Nanoparticles and their impact on plants*, 77-99.
- Zhang, T., Xiong, J., Tian, R., Li, Y., Zhang, Q., Li, K., ... & Tian, B. 2022. Effects of single-and mixed-bacterial inoculation on the colonization and assembly of endophytic communities in plant roots. *Frontiers in Plant Science*, 13, 928367.
- Zhang, X., Tong, J., Dong, M., Akhtar, K., & He, B. 2022. Isolation, identification and characterization of nitrogen fixing endophytic bacteria and their effects on cassava production. *PeerJ*, 10, e12677.
- Zhang, Y., Wu, X., Wang, X., Dai, M., & Peng, Y. 2025. Crop root system architecture in drought response. *Journal of Genetics and Genomics*, 52(1), 4-13.
- Zhao, L., Xu, Y., Huang, X., Xi, L., Song, W., & Yang, J. 2023. Effects of Two Endophytic Bacteria on SOD and CAT Activities in Soybean Seedlings under Salt Stress in Old Yellow River Basin in Eastern Henan Province, China.
- Zhao, L., Yu, J., Song, X., Niu, Y., Xie, J., Zhang, L., & Li, X. 2024. Impact of land-use change on coupling coordination degree of regional water–food–carbon system. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1449041.
- Zhou, X., Liu, X., Zhao, J., Guan, F., Yao, D., Wu, N., & Tian, J. 2021. The endophytic bacterium *Bacillus koreensis* 181–22 promotes rice growth and alleviates cadmium stress under cadmium exposure. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105, 8517-8529.
- Zhuang, J., Wang, Y., Chi, Y., Zhou, L., Chen, J., Zhou, W., ... & Ding, J. 2020. Drought stress strengthens the link between chlorophyll fluorescence parameters and photosynthetic traits. *PeerJ*, 8, e10046.
- Zou, M., Liu, H., Yu, K., Chen, Y., Huang, Y., Feng, N., Zhu, Z. 2024. Synergistic effects of low-concentration nanoparticles and *Bacillus megaterium* on the growth of roses and rhizosphere microbial communities. *Plant and Soil*, 1-19.