

Aynisefa (*Calendula officinalis* L.)'nın Kimyasal, Fizyolojik ve Morfolojik Gelişim Parametreleri Üzerine Bazı Endofitik Bakterilerin Etkisi

Ezelhan ŞELEM^{1*}, Ceylan Pınar UÇAR², Rüveyde TUNÇTÜRK³, Ahmet AKKÖPRÜ²,
Murat TUNÇTÜRK³

¹Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Muradiye Meslek Yüksekokulu, Peyzaj ve Süs Bitkileri Bölümü, Van, TÜRKİYE

²Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Van, TÜRKİYE

³Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Van, TÜRKİYE

Geliş Tarihi/Received: 25.06.2023

Kabul Tarihi/Accepted: 10.10.2023

ORCID ID (Yazar sırasına göre / by author order)

 orcid.org/0000-0003-4227-5013  orcid.org/0000-0001-9056-9353  orcid.org/0000-0002-3759-8232  orcid.org/0000-0002-1526-6093
 orcid.org/0000-0002-7995-0599

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: ezelhaselem@yyu.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, 11 endofit bakteri izolatının *Calendula officinalis* L. bitkisinde bazı morfolojik, kimyasal ve fizyolojik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. *Calendula officinalis* L. bitkisine ait tohumlar; Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne ait olan iklim odasında, kontrollü şartlarda (% 65 nem, 25 °C sıcaklık ve 8/16 saatlik karanlık/aydınlık fotoperiyotta), 500 cc'lik saksılarda, torf + toprak + perlit (1:2:1) ortamına 7 tekerrürlü olarak yetiştirilmiştir. Endofit bakteri izolatlarının her birinin incelenen parametreler bakımından bitkilerde pozitif, negatif veya nötr olarak farklı etkilerde bulunduğu tespit edilmiştir. Çalışmanın sonucunda ölçüm ve gözlemleri yapılan parametrelerin tamamının istatistiksel olarak önemli olduğu sonucuna varılmıştır. İncelenen parametrelerden kök yaş (3.16-5.75 g) ve kök kuru (0.39-0.88 g) ağırlığı, gövde yaş (0.69-4.38 g) ve gövde kuru (0.50-0.75 g) ağırlığı, kök boyu (12.57-21.95 cm), azot balans indeksi (25.17-70.56 mg g⁻¹), klorofil (18.99-27.45 mcg cm⁻²), flavonol (0.33-0.62 Dualex index), antosiyenin (0.108-0.041 Dualex index), yaprak alanı (6.21-16.7 cm²) ve bitki sıcaklığı (20.08-21.22 °C) istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli görülürken; bitki boyunun, (7.50-10.00 cm) % 5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda oluşturulacak uygun bitki-bakteri kombinasyonlarının çevre dostu ve sürdürülebilir *C. officinalis* üretimini mümkün kılacağı ön görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Calendula officinalis* L., endofit bakteriler, izolat, morfolojik gözlem

Effect of Some Endophytic Bacteria on Chemical, Physiological and Morphological Developmental Parameters of Marigold (*Calendula officinalis* L.)

Abstract: In this study, the effects of 11 endophyte bacteria (EB) isolates on some morphological, chemical and physiological properties of *Calendula officinalis* L. were investigated. *Calendula officinalis* L. plant was grown in the climate chamber belonging to Van Yüzüncü Yıl University Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, under controlled conditions (65% humidity, 25 °C temperature and 8/16 hours dark/light photoperiod) in peat + soil + perlite (1:2:1) medium in 500 cc pots as 7 replicates. It has been determined that each of the EB isolates has different positive, negative or neutral effects on the plants in terms of the investigated parameters. As a result of the study, it was determined that all parameters examined were statistically significant. Among the examined parameters, stem fresh (0.69-4.38 g) and stem dry (0.50-0.75 g) weight, root length (12.57-21.95 cm), root fresh (3.16-5.75 g) and root dry (0.39-0.88 g) weight, Nitrogen Balance Index (25.17-70.56 mg g⁻¹), chlorophyll (18.99-27.45 mcg cm⁻²), flavonol (0.33-0.62 Dualex index), anthocyanin (0.108-0.041 Dualex index), leaf area (6.21-16.7 cm²) and plant temperature (20.08-21.22 °C) were found to be statistically significant at the 1% level, while plant height (7.50-10.00 cm) was significant at the 5% level. It is foreseen that the appropriate plant-bacteria combinations to be created as a result of the study will enable the production of environmentally friendly and sustainable *C. officinalis*.

Keywords: *Calendula officinalis* L., endophyte bacteria, isolate, morphological observation

1. Giriş

Aynısefa (*Calendula officinalis* L.) Asteraceae familyasına ait, Akdeniz Bölgesi'ne özgü bir bitki olup, yüzyıllardır tıbbi ve süs amaçlı olarak tarla şartlarında dünya çapında yetiştirilmektedir. Yetiştirilmesi sadece ilaç endüstrisi tarafından değil, aynı zamanda dinamik olarak gelişen kozmetik üretimi tarafından da teşvik edilmektedir (Ao, 2007; Bielski ve Szwejkowska, 2013). Bitki, yaraların iyileşmesi ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan geniş kapsamlı terapötik etkileri olan bir tür olarak bilinmektedir (Ak ve ark., 2021). İlaç endüstrisi, koyu turuncu renkli ve özel bir kokuya ve acı tada sahip ligulat çiçeği veya aynısefanın tam bileşik çiçeklerini kullanır (Dedio ve ark., 1986; Bielski ve Szwejkowska, 2013). Bitkinin yaprak ve çiçek aksamaları tıbbi olarak ateş düşürücü, iltihap önleyici, antiepileptik ve antimikrobiyal olarak değerlendirilmektedir (Arora ve ark., 2013).

Bitki gelişiminde etkili olan kimyasal gübreler ve zararlı organizmaları kontrol altına almak için kullanılan pestisitlerin aşırı ve bilinçsiz kullanımı, hem çevre hem de insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Aynısefa gibi tıbbi ve aromatik özellikteki bitkilerin yetiştirilmesinde kimyasal gübre ve pestisit kullanımından kaçınmak önem taşımaktadır (Egamberdieva ve Teixeira da Silva, 2015). Bu çerçevede bitkilerin gelişimini, besin maddesi alınımını, biyotik ve abiyotik stres koşullarına toleransını arttıran simbiyotik veya serbest yaşayan mikroorganizmalar önemli potansiyele sahiptir (Altunlu ve ark., 2019).

Bitki gelişimini teşvik eden yararlı bakteriler (Plant Growth-Promoting Bacteria, PGPB) bitkide buldukları yere göre endofit ve epifit olmak üzere iki şekilde isimlendirilirler. Epifitik bakteriler bitki yüzeyinde veya rizosferde bulunan, endofitik bakteriler (EB) ise yaşamlarının en az bir bölümünü bitkinin iç dokularında geçiren ve bitkilere herhangi bir zarar oluşturmayan yararlı bakteriler olarak tanımlanır (Hallmann ve ark., 1997; Ahemad ve Kibret, 2014). Endofitik bakteriler yoğun yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitkilerin iç dokularından izole edilebilir (Santoyo ve ark., 2016; Sülü ve ark., 2016). PGPR'ın alt grubu olan EB, bitki dokuları içinde kolonize olabilmesi nedeniyle bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine direkt ve indirekt etkiye sahiptir. PGPR bitki gelişimini; azot fiksasyonu, çözünemeyen veya bitkinin alabileceği formlarda olmayan bitki besin maddelerinin bitkinin alabileceği formlara dönüştürmesi ve bitkisel hormonların (İndol asetik asit, oksin, sitokin, etilen, gibberelik asit vb.) üretimi gibi

mekanizmalar ile doğrudan, zararlı organizmalar ve biyolojik savaş (rekabet, hiperparazitizm, antibiyosis vd) mekanizmaları ile dolaylı olarak teşvik edebilirler (Saranraj ve ark., 2013; Santoyo ve ark., 2016; Aktan ve Soylu, 2020; Uçar ve Akköprü, 2022).

Bu çalışmada, bazı endofitik bakterilerin, tıbbi değeri yüksek önemli bir bitki olan aynısefa (*C. officinalis* L.)'nın fide gelişimi ile bazı fizyolojik ve kimyasal parametreler üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Bitkinin yetiştirilmesi

Çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi (Van YYÜ) Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bahçesi'nden temin edilen *C. officinalis* L. bitkisine ait tohumlar kullanılmıştır. Bitkiler; Van YYÜ Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne ait olan iklim odasında, kontrollü şartlarda (% 65 nem, 25 °C sıcaklık ve 8/16 saatlik karanlık/aydınlık fotoperiyotta), 500 cc'lik saksılarda torf + toprak + perlit (1:2:1) ortamına 7 tekerrürlü olarak tohumlar ekilerek yetiştirilmiştir. Kotiledon yapraklar çıktıktan sonra fidelerin besin ihtiyacını karşılamak amacıyla saksı başı 50 cc olacak şekilde toplamda iki kere Hoagland besin çözeltisi uygulaması yapılmıştır (Hoagland ve Arnon, 1950).

2.2. Endofit bakteriler ve uygulaması

Çalışmada kullanılan EB; Bitki Koruma Bölümü, Bakteriyoloji Laboratuvar stoklarında bulunan ve Van YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Daire Başkanlığı tarafından desteklenen proje (Hibe No: FBA-2020-8551) kapsamında Van Gölü Havzası'ndan Poaceae familyasına ait bitkilerden izole edilmiş izolatlar arasından seçilmiştir (Tablo 1). Bu amaçla King B besiyerinde yetiştirilen 48 saatlik kültürlerden 108 CFU mL⁻¹ yoğunluğa sahip EB süspansiyonları hazırlanmıştır. Endofitik bakteri süspansiyonu 15 mL bitki⁻¹ ıslatma yöntemi ile uygulanmıştır (Uçar ve Akköprü, 2022).

Endofit bakteriler fidelere iki defa içirme yoluyla uygulanmıştır. İlk uygulama kotiledon yaprakların çıkmasıyla yapılmıştır. İkinci uygulama ise gerçek yaprakların oluşması ile kök boğazına uygulanarak yapılmıştır. Bu amaçla izolatlar King B (King ve ark., 1954) besi ortamında ekimi yapılarak 24 °C 48 saat inkübatörde canlandırmaya bırakılmıştır. Gelişim gösteren endofit bakteriler süspansiyonları edilerek spektrofotometre yardımıyla yoğunlukları 10⁸ CFU mL⁻¹'ye ayarlanmıştır. Endofitik bakteri süspansiyonu her bitkiye 15 ml olacak şekilde uygulaması yapılmıştır.

Tablo 1. Çalışmada kullanılan endofit bakteri izolatlarının isimleri ve bazı PGPR özellikleri
Table 1. Names and some PGPR properties of the endophyte bacterial isolates used in the study

No	İzolat kodu	Siderefor üretim yeteneği (Eİ)	Azot fiksasyon yeteneği	P çözme (Eİ)	ACCd	IAA	Gram reaksiyonu*
1	G59S2	2.42	+	8.125	-	0.655	-
2	G106Y1	-	-	1.57	-	0.941	+
3	G129K1-1	1.75	+	2.12	-	1.419	-
4	G100Y2	1.33	-	3.94	+	0.740	-
5	G43K2	1.28	+	1.89	-	0.43	-
6	G21Y1	2.04	-	1.12	+	1.472	-
7	G118K1T	2.30	-	6.91	-	0.045	-
8	G113Y1	1.51	-	1.60	-	0.024	+
9	G58S1	1.47	-	1.69	+	0.938	-
10	G91S2	1.33	+	6.75	-	0.554	+
11	G104Y1	1.89	-	2.61	+	1.108	-

Eİ: Enzim İndeksi, P çözme: In vitro fosforu çözündürme yeteneği, ACCd: Aminositropropan-1-karboksilat deamiraz, IAA: İndol asetik asit üretimi, *: KOH testine göre gram reaksiyonu

2.3. Bitki gelişim parametrelerinin belirlenmesi

Endofit bakterilerin bitki gelişimine etkisini belirlemek için çalışma, 8 hafta sonra sonlandırılmıştır. Bitkinin gövde kısmı kök boğazından kesilmiş kökler ayrı olarak yıkanmıştır. Kökler oda sıcaklığında kurutma kağıtları üzerine bırakılarak yıkama suyu uzaklaştırılmıştır. Gövde ve kök uzunluğu dijital kumpas yardımıyla cm olarak ölçülmüştür. Gövde ve köklerin yaş ve kuru ağırlığı hassas terazi (Metler Tolerado) yardımıyla tartılmıştır. Kuru ağırlıklarının belirlenmesi için kökler ve gövdeler 40 °C'de 72 saat süreyle kurutulmuş ve tartılmıştır (Tunçtürk ve ark., 2023). Yaprak yüzey sıcaklıkları taşınabilir infrared termometre ile, yaprak alanı ise "Easy Leaf Area" programı kullanılarak ölçülmüştür. Yapraklarda antosiyanin, flavonol, klorofil ve azot balans indeksi (ABI) Dualex scientific+ (FORCE-A, Fransa) cihazı ile yaprak üzerinden tahribatsız ve gerçek zamanlı olarak ölçülmüştür (Şelem ve ark., 2021; Yolci ve ark., 2022).

2.4. Verilerin analizi

Çalışmanın sonucunda elde edilen veriler COSTAT (6.3 versiyonu) bilgisayar analiz programında tesadüf parselleri deneme deseninde faktöriyel düzende varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır.

3. Bulgular

Endofit bakteri izolatlarının *C. officinalis* bitkisinde morfolojik ve fizyolojik gelişim parametreleri üzerine olan etkileri incelenmiş ve elde edilen veriler Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

Endofit bakteri izolatlarının bitkilerin morfolojik gelişim parametreleri üzerindeki

etkilerinin farklı olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada bakteri izolatlarının bitki boyu üzerinde istatistiksel olarak % 5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Bitki boyu açısından tüm EB uygulamalarının kontrole kıyasla önemli düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir. Bitki boyunun 7.50 ile 10.0 cm arasında değişiklik gösterdiği ve en düşük bitki boyunun kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir (Tablo 2).

Yapılan çalışmada bakteri izolatlarının gövde yaş ağırlığı üzerinde istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarına göre en yüksek bitki yaş ağırlığı G104Y1 (4.38 g) izolatından alınırken, altı bakteri izolatı ile aralarındaki farklılığın istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir. En düşük değer G129K1 (2.69 g) izolatından elde edilmiştir (Tablo 2).

Gövde kuru ağırlığı üzerine deneme faktörlerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarına göre en yüksek bitki kuru ağırlığı G58S1 (0.75 g) izolatından alınırken; bu izolatın, yedi bakteri izolatı ile aralarındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. En düşük değer G118K1T (0.50 g) izolatından elde edilmiştir (Tablo 2).

Kök boyu üzerinde bakteri uygulamalarının istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. En yüksek kök boyu 21.95 cm olarak G59S2 uygulamasından alınırken, en düşük değer 12.57 cm ile G91S2 uygulamasından elde edilmiştir (Tablo 2).

Kök yaş ağırlığı üzerinde bakteri uygulamalarının istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli etkisi olduğu belirlenmiştir. Yapılan ölçümlerde en yüksek yaş ağırlığı G58S1 (5.75 g)

Tablo 2. *C. officinalis* türünde farklı bakteri uygulamalarının morfolojik ölçüm ortalama değerleri ve oluşan gruplarTable 2. Morphological measurement average values and groups formed from different bacterial applications in the *C. officinalis* species

Uygulamalar	Bitki boyu (cm)	Gövde yaş ağırlığı (g)	Gövde kuru ağırlığı (g)	Kök boyu (cm)	Kök yaş ağırlığı (g)	Kök kuru ağırlığı (g)
Kontrol	7.50 b	3.36 def	0.69 abc	17.85 b	5.14 a	0.51 def
G58S1	9.64 a	4.15 a-d	0.75 a	18.60 b	5.75 a	0.68 b
G129K1	8.92 a	2.69 f	0.59 cde	17.53 b	3.19 d	0.61 bcd
G113Y1	9.07 a	4.28 ab	0.72 ab	17.00 bc	3.16 d	0.49 ef
G43K2	9.07 a	4.27 ab	0.73 ab	17.57 b	5.44 a	0.82 a
G106Y1	8.92 a	3.41 c-f	0.69 ab	17.57 b	5.18 a	0.65 bc
G91S2	9.50 a	3.76 a-e	0.56 de	12.57 d	3.57 cd	0.39 f
G21Y1	10.00 a	3.88 a-e	0.61 b-e	19.28 b	5.22 a	0.61 bcd
G100Y2	9.42 a	3.33 ef	0.64 a-d	14.71 cd	3.88 bc	0.48 ef
G118K1T	9.14 a	4.21 abc	0.50 e	17.42 b	5.53 a	0.64 bc
G59S2	9.64 a	3.52 b-e	0.66 a-d	21.95 a	4.41 b	0.54 cde
G104Y1	9.00 a	4.38 a	0.68 abc	17.42 b	5.64 a	0.88 a
Ortalama	9.15	3.77	0.66	17.42	4.67	0.61
F değeri	1.950*	3.264**	2.964**	6.440**	17.616**	11.604**
LSD	1.25	0.80	0.12	2.52	0.65	0.11
DK (%)	12.88	20.09	17.53	13.55	13.18	17.80

LSD: Least Significant Difference (Asgari Önemli Fark), DK: Değişim katsayısı, *: p<0.05 düzeyinde önemlilik, **: p<0.01 düzeyinde önemlilik

Tablo 3. *C. officinalis* türünde farklı bakteri uygulamalarının fizyolojik ölçüm ortalama değerleri ve oluşan gruplarTable 3. Physiological measurement average values and groups formed from different bacterial applications in the *C. officinalis* species

Uygulamalar	ABİ (mg g ⁻¹)	Klorofil (mcg cm ⁻²)	Flavonol (Dual index)	Antosiyanin (Dual index)	Yaprak alanı (cm ²)	Bitki sıcaklığı (°C)
Kontrol	25.17 c	18.99 e	0.62 a	0.108 a	6.21 d	20.08 h
G58S1	46.91 b	24.63 a-d	0.51 bc	0.051 de	16.37 a	20.50 fg
G129K1	47.84 b	25.70 abc	0.56 ab	0.055 cde	10.36 c	20.87 b-e
G113Y1	65.01 a	25.74 ab	0.43 de	0.068 bc	13.37 b	21.14 ab
G43K2	53.71 b	27.18 a	0.56 ab	0.051 de	12.72 bc	20.52 efg
G106Y1	48.90 b	21.45 de	0.45 cd	0.068 bc	11.99 bc	20.90 a-d
G91S2	64.13 a	25.84 ab	0.41 def	0.054 cde	12.11 bc	20.57 d-g
G21Y1	63.38 a	27.45 a	0.40 def	0.041 e	13.31 b	20.37 gh
G100Y2	49.00 b	23.01 bcd	0.47 cd	0.064 bcd	13.72 b	20.97 abc
G118K1T	67.96 a	24.52 a-d	0.36 ef	0.064 bcd	11.34 bc	20.77 c-f
G59S2	46.40 b	21.77 cde	0.45 cd	0.074 b	12.11 bc	20.57 d-g
G104Y1	70.56 a	24.43 a-d	0.33 f	0.060 bcd	12.64 bc	21.22 a
Ortalama	54.08	24.22	0.46	0.063	11.79	20.71
F değeri	18.987**	3.222**	9.058**	7.997**	10.593**	6.971**
LSD	8.29	3.93	0.08	0.01	2.39	0.35
DK (%)	14.39	15.24	16.45	24.85	19.01	1.60

ABİ: Azot balans indeksi, LSD: Least Significant Difference (Asgari Önemli Fark), DK: Değişim katsayısı, **: p<0.01 düzeyinde önemlilik

uygulamasından elde edilirken, altı farklı bakteri uygulaması ile aynı Duncan grubunda yer almıştır. En düşük kök yaş ağırlığı G113Y1 (3.16 g) ile G129K1 (3.19 g) uygulamasından elde edilmiştir (Tablo 2).

Bitki kök kuru ağırlığına EB etkisinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. En yüksek kök kuru ağırlığı aynı Duncan grubunda yer alan G104Y1 (0.88 g) ve G43K2 (0.82 g) izolatlarından elde edilirken, en

düşük değer G91S2 (0.39 g) izolatından elde edilmiştir (Tablo 2).

Azot balans indeksi, klorofil, flavonol, antosiyanin, yaprak alanı ve bitki sıcaklığı üzerinde farklı bakteri izolatlarının etkisi istatistiksel olarak % 1 seviyesinde önemli bulunmuştur. En düşük ABİ değeri, 25.17 mg g⁻¹ olarak kontrol grubundan elde edilirken; en yüksek değer 70.56 mg g⁻¹ olarak G104Y1 izolatından tespit edilmiş olup, G118K1T, G91S2, G21Y1 ve G113Y1 izolatları ile aynı

Duncan grubunda yer aldığı belirlenmiştir. Yapılan ölçümlerde en yüksek klorofil içeriği aynı Duncan grubunda yer alan G21Y1 (27.45 mcg cm⁻²) ve G43K2 (27.18 mcg cm⁻²) izolatlarından elde edilirken, altı farklı bakteri izolatı ile aralarındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. En düşük klorofil içeriği kontrol grubundan (18.99 mcg cm⁻²) elde edilmiştir. Flavonol içeriğinde ise en yüksek değer kontrol (0.62 dx) grubundan elde edilirken, G129K1 (0.56 dx) ve G43K2 (0.56 dx) izolatları ile aralarındaki farklılık istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. En düşük flavonol içeriği G104Y1 (0.33 dx) izolatından elde edilmiştir. Yapılan ölçümlerde en yüksek antosiyanin içeriği 0.108 dx ile kontrol grubundan elde edilmiştir. En düşük antosiyanin içeriği ise 0.041 dx ile G21Y1 izolatından elde edilmiştir. Çalışmada, en yüksek yaprak alanı 16.37 cm² ile G58S1 bakteri izolatından alınırken, en düşük yaprak alanı 6.21 cm² ile kontrol grubundan elde edilmiştir. En yüksek bitki sıcaklığı 21.22 °C ile G104Y1 izolatından elde edilirken; G106Y1, G100Y2 ve G113Y1 izolatları ile aralarındaki farklılığın istatistiki olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir. En düşük bitki sıcaklığı ise 20.08 °C ile kontrol grubundan tespit edilmiştir (Tablo 3).

4. Tartışma ve Sonuç

Kozmetik, tıp, peyzaj ve gıda sanayisinde kullanılan aynısefanın pek çok ülkede yayılış gösterdiği ve kültürünün yapıldığı bilinmektedir. Taze yapraklar doğranıp salatalara eklenebilmekte veya yemeklerde garnitür olarak kullanılabilir. Kurutulmuş yaprakları yoğun tada sahiptir ve çorbalarda, keklerde, içeceklerde ve pişmiş ürünlerde baharat olarak tüketilmektedir (Lim, 2014). Oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan aynısefa bitkisinin yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması ve kimyasal girdilerin olmadığı biyolojik stimülantların tercih edildiği üretim şekli oldukça önemlidir. Yapılan çalışmada 11 EB izolatı kullanılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Bitki büyümesi üzerinde incelenen parametreler açısından farklı grupların ön plana çıktığı görülmüştür.

PGPR'ler fosforu çözmesi, atmosferdeki serbest azotu bağlaması, enzim ve fitohormon üretmesi gibi direk etkileri ile bitki gelişimini pozitif yönde etkilerken, yer ve besin yarıışı ile patojen gelişimini baskılaması, bitkide sistemik dayanıklılığı artırması, ürettiği bazı sekonder metabolitler ile patojenin gelişimini inhibe etmesi gibi indirek etki ile de bitki gelişimini desteklemektedirler (İmriz ve ark., 2014).

Literatürde, *C. officinalis*'in bitki boyunun 25-30 cm olduğu belirtilmiştir (Güven ve ark., 2022);

fakat, yapılan çalışmada bitki boyu 7.5-10 cm olarak tespit edilmiştir. İlgili literatürden farklı olmasının sebebi bitkilerin fide döneminde hasat edilmesidir. Rahimi ve ark. (2013), azot fiksasyon yeteneğine sahip bakterilerin fesleğen (*Ocimum bacilicum* L.) bitkisinin boyunu arttırdığını bildirmişlerdir. Zhang ve ark. (2019) bakteri inokule edilen bitkilerde kök ve gövde uzunluğu, ikincil kök sayısı ve yaprak alan indeksi arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu ortaya koymuşlardır. Şelem ve ark. (2021) yaptığı çalışmada, *C. officinalis* bitkisinde *Bacillus megaterium* bakterisinin gövde uzunluğu (11.0 cm), kök yaş ağırlığı (0.89 g) ve gövde yaş ağırlığını (6.09 g) olumlu yönde etkilediğini vurgulamışlardır. Yürütülen çalışmada incelenen parametreler bakımından bakteri izolatlarının ilgili literatürler ile arasında farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Morfolojik özellikler bakımından incelenen her parametrede farklı bakteri izolatları ön plana çıkmıştır.

Çakmakçı ve ark. (2012), çalışmalarında azot fikseri ve fosfat çözücü bakterileri kullanarak Muradiye 10 çay klonunda, 11 bakteriyel izolatın fidan boyu, gövde gelişiminde artış sağladığını tespit etmiş ve bazı izolatların mineral gübrelemeye eşit hatta daha fazla etkinlik gösterdiğini ve bu izolatların biyolojik gübre potansiyelleri olduğunu vurgulamışlardır. Rizobakteri uygulamasının bitkide meydana getirdiği fizyolojik değişimler üzerinde çalışmalar yapan Baset Mia ve ark. (2010) muz bitkisinde yaptıkları çalışmada PGPR uygulaması gören bitkilerin kök uzunluklarında ve ağırlıklarında önemli oranda artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar klorofilmetre (SPAD 502, MINOLTATM Camera Ltd Japan) kullanarak yaptıkları çalışmada PGPR uygulaması gören bitkilerin yapraklarında klorofil içeriğinde ve yaprakların ağırlıklarında artış meydana geldiğini saptamışlardır. Çalışmaları sonucunda 2 izolatın potansiyel biyolojik gübre olarak değerlendirilebileceğini vurgulamışlardır. Yürütülen çalışmada G43K2 ve G21Y1 izolatlarının klorofil içeriğinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda, sarımsak (Esringü ve ark., 2016), bakla (Çirka ve ark., 2022) ve aynısefa (Şelem ve ark., 2022) gibi bitkilerin klorofil miktarı üzerine, mevcut araştırma bulgularında olduğu gibi, farklı bakteri uygulamalarının etkili olduğu tespit edilmiştir. Yürütülen çalışmada klorofil miktarında genel bir artış olduğu ve en düşük değerlerin içerisinde kontrol grubunun da olduğu iki bakteri izolatında (G59S2 ve G106Y1) olduğu gözlenmiştir.

Sıcaklığın bitkilerde strese bağlı olarak artış gösterdiği bilinmektedir. Bitkilerde meydana gelen sıcaklık artışlarının vejetatif aksam gelişimi ile

negatif bir korelasyona içerisinde olduğu ortaya konmuştur (Blum, 2009). Yürütülen çalışmada bakteri uygulanan bitkilerdeki sıcaklığın kontrol grubu ve G21Y1 izolatında daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Yapraklarda ABİ üzerine EB uygulamalarının tamamı kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde artış sağlamıştır (Tablo 3). Araştırmacılar stresin azot kullanım etkinliğini ve ABİ değerlerini azalttığını ortaya koymuştur (Shakiba ve ark., 2010). Oral ve ark. (2021) soya fasulyesinde yaptığı çalışmada bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin bitkideki ABİ değerini kontrol grubuna kıyasla arttırdığını ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde sorgum bitkisinde stress ile birlikte bitkide azot dengesinin düşerek erken yaprak olgunluğuna neden olduğu belirtilmiştir (Chen ve ark., 2015). Araştırmadan elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu söylenebilir. Flavonol bir çok bitkide bulunan düşük moleküler ağırlığa sahip polifenolik bileşiklerdir. Bitkilerde çiçeklenme üzerine önemli rollere sahiptirler. Tozlanma esnasında böcek ve arı popülasyonunu çekmeye yarayan kırmızı-mavi yada sarı pigmentleri üretirler (Birman, 2012). Yürütülen çalışmada kontrol grubundaki bitkiler ve PGPR uygulanmış bitkiler arasında flavonol içeriği bakımından farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Deuschle ve ark. (2015), *C. officinalis* L. yapraklarının fitokimyasal, in vitro antioksidan etkisini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, bitkide flavonoidlerin (24.67 mg g⁻¹) güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Antosiyaninde tıpkı flavonol gibi suda çözülebilen çeşitli renklerdeki bileşiklerdir. Bitkide epidermal ve mezofil dokusu içerisindeki boşluklarda bulurlar. Kuraklık stresi gibi abiyotik faktörlere karşı çeşitli organlardaki renk değişimini sağlayarak bitkilerde ikincil savunma mekanizmasını oluşturur (Aztekin ve Kasım, 2017). Yapılan çalışmalarda stres altında miktarlarında artışların olduğu ortaya konmuştur (Hanson ve ark., 2011; Kasım, 2017). Yürütülen çalışmada en yüksek antosiyanin değerinin 0.108 dx ile kontrol grubunda olduğu görülmüştür. Bakteri uygulamalarının kontrole kıyasla daha düşük miktarda antosiyanin içerdiği görülmüştür. Tunçtürk ve ark. (2021) soya fasulyesinde yaptıkları çalışmada rizobakteri uygulamalarının kontrole göre yaprak alan indeksinde artış sağladığını ortaya koymuştur. Araştırmacıların bulduğu sonuçlar ile bulgularımızın benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Yapılan tarımsal üretimlerde farklı amaçlarla çok sayıda kimyasal girdi kullanılmaktadır. *Calendula officinalis* gibi tıbbi ve aromatik özellikteki bitkilerin yetiştiriciliğinde bu kimyasal pestisit ve sentetik gübre gibi kimyasalların

kullanılmaması veya asgari düzeyde kullanılması önem arz etmektedir. Biyolojik gübre kullanımı bu uygulamalara önemli bir alternatif niteliğindedir. Yapılan çalışmada 11 EB izolatının *C. officinalis* bitkisinde bazı morfolojik ve fizyolojik özelliklerine pozitif yönde katkı sunmuş ve etkili sonuçlar alınmıştır. İncelenen parametreler açısından G104Y1 izolatının birçok parametre bakımından ön plana çıktığı görülmüştür. Çalışmanın sonucunda oluşturulacak uygun bitki-bakteri kombinasyonlarının çevre dostu ve sürdürülebilir *C. officinalis* üretiminin mümkün olduğu görülmektedir.

Yazarların Katkı Beyanı

Yazarlar; makaleye eşit katkıda bulduklarını, makalenin yayına hazır son halini gördüklerini/okuduklarını ve onayladıklarını beyan ederler.

Finansman

Bu araştırma, hiçbir dış finansman almamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Tüm yazarlar, bu çalışma için herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Kaynaklar

- Ahemad, M., Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current Perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26(1): 1-20.
- Ak, G., Zengin, G., Ceylan, R., Fawzi Mahomoodally, M., Jugreet, S., Mollica, A., Stefanucci, A., 2021. Chemical composition and biological activities of essential oils from *Calendula officinalis* L. flowers and leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 36(5): 554-563.
- Aktan, Z.C.C., Soylu, S., 2020. Diyarbakır ilinde yetişen badem ağaçlarından endofit ve epifit bakteri türlerinin izolasyonu ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının karakterizasyonu. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(3): 641-654.
- Altunlu, H., Demiral, O., Dursun, O., Sönmez, M., Ergün, K., 2019. Mikrobiyal gübre uygulamasının tatlı mısır (*Zea mays* L. var. *saccharata*) yetiştiriciliğinde bitki gelişimi ve verim üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(1): 32-39.
- Ao, C., 2007. Comparative anatomy of bisexual and female florets, embryology in *Calendula officinalis* (Asteraceae), a naturalized horticultural plant. *Scientia Horticulturae*, 114(3): 214-219.
- Arora, D., Rani, A., Sharma, A., 2013. A review on phytochemistry and ethnopharmacological aspects of genus *Calendula*. *Pharmacogn Reviews*, 7(14): 179-187.

- Aztekin, F., Kasım, R., 2017. Ultraviyole ışık ve çevresel stres şartlarında meyve ve sebzelerde antosiyaninlerin oluşumu ve değişimi. *Meyve Bilimi*, 1(Özel Sayı): 181-187.
- Baset Mia, M.A., Shamsuddin, Z.H., Wahab, Z., Marziah, M., 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation of tissue-cultures Musa plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. *Australian Journal of Crop Science*, 4(2): 85-90.
- Bielski, S., Szwejkowska, B., 2013. Effect of fertilization on the development and yields of pot marigold (*Calendula officinalis* L.). *Herba Polonica*, 59(2): 5-12.
- Birman, H., 2012. Bitkisel flavonoid bileşiklerinin biyoaktiviteleri ve muhtemel etki mekanizmaları. *İstanbul Tıp Fakültesi Dergisi*, 75(3): 46-49.
- Blum, A., 2009. Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research*, 112(2-3): 119-123.
- Chen, D., Wang, S., Xiong, B., Cao, B., Deng, X., 2015. Carbon/nitrogen imbalance associated with drought-induced leaf senescence in *Sorghum bicolor*. *PLoS ONE*, 10(8): e0137026.
- Çakmakçı, R., Ertürk, Y., Dönmez, M.F., Erat, M., Kutlu, M., Sekban, R., Haznedar, A., 2012. Azot fikseri ve fosfat çözücü bakterilerin Muradiye 10 çay klonunda gelişme, verim ve besin alımı üzerine etkisi. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(2): 176-181.
- Çirka, M., Tunçtürk, R., Kulaz, H., Tunçtürk, M., Eryiğit, T., Baran, İ., 2022. Kuraklık stresi altında yetiştirilen bakla (*Vicia faba* L.) bitkisinde rizobakteri ve alg uygulamalarının bitki gelişimi üzerindeki etkilerinin incelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 12(2): 1124-1133.
- Dedio, I., Kozłowski, J., Załęcki, R., 1986. Calendula-cultivation and use in medicinal therapies. *Wiadomości Zielarskie*, 5: 1-2.
- Deuschle, V.C.K.N., Deuschle, R.A.N., Piana, M., Boligon, A.A., Bortoluzzi, M.R.B., Dal Prá, V., Athayde, M.L., 2015. Phytochemical evaluation and in vitro antioxidant and photo-protective capacity of *Calendula officinalis* L. leaves. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 17(4): 693-701.
- Egamberdieva, D., Teixeira da Silva, J. A., 2015. Medicinal plants and PGPR: A new frontier for phytochemicals. In: D. Egamberdieva, S. Shrivastava and A. Varma (Eds.), *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*, Cham: Springer International Publishing, Switzerland, 42: 287-303.
- Ersingü, A., Kotan, R., Bayram, F., Ekinci, M., Yıldırım, E., Nadaroğlu, H., Katurcioğlu, H., 2016. Sarımsak yetiştiriciliğinde farklı bakteri biyoformülasyonu uygulamalarının bitki gelişimi parametreleri, verim ve enzim düzeyleri üzerine etkisi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5: 214-227.
- Güven, U.M., Arslan, S., Çıracı, M.B., Kayıran, S.D., 2022. *Calendula officinalis* L. bitkisinin morfolojik özellikleri, ekstre içeren topikal ilaç formülasyonu geliştirilmesi ve in vitro değerlendirilmesi. *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 12(1): 105-115.
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W.F., Klopper, J.W., 1997. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10): 895-914.
- Hanson, P., Yang, R.Y., Chang, L.C., Ledesma, L., Ledesma, D., 2011. Carotenoids, vitamin C, minerals, and total glucosinolates in choysum (*Brassica rapa* cv g. *parachinensis*) and kailaan (*B. oleracea* Alboglabra group) as affected by variety and wet and dry season production. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7): 950-962.
- Hoagland, D.R., Arnold, D.I., 1950. The water culture method of growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, 347: 1-6.
- İmriz, G., Özdemir, F., Topal, İ., Ercan, B., Taş, M.N., Yakışır, E., Okur, O., 2014. Bitkisel üretimde bitki gelişimini teşvik eden rizobakteri (PGPR)'ler ve etki mekanizmaları. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 12(2): 1-19.
- Kasım, R., 2017. Ultraviyole ışık ve çevresel stres şartlarında meyve ve sebzelerde antosiyaninlerin oluşumu ve değişimi. *Meyve Bilimi*, 2(Özel Sayı): 181-187.
- King, E.O., Ward, M.K., Raney, D.E., 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluoresin. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 44: 301-307.
- Lim, T.K., 2014. *Calendula officinalis*. In: T.K. Lim (Ed.), *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants, Volume 7, Flowers*, Springer, Dordrecht, Netherlands, pp. 213-244.
- Oral, E., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., 2021. The effect of rhizobacteria in the reducing drought stress in soybean (*Glycine max* L.). *Legume Research An International Journal*, 44(10): 1172-1178.
- Rahimi, A., Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Khalighi-Sigaroodi, F., 2013. Effects of bio-stimulators and bio-fertilizers on morphological traits of basil (*Ocimum bacilicum* L.). *Annals of Biological Research*, 4(5): 146-151.
- Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., Carmen Orozco-Mosquedac, M., Glick, B.R., 2016. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183: 92-99.
- Saranraj, P., Sivasakthivelan, P., Sakthi, S.S., 2013. Prevalence and production of plant growth promoting substance by pseudomonas fluorescens isolated from paddy rhizosphere soil of cuddalore district, Tamil Nadu, India. *African Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(2): 95-101.
- Selem, E., Tuncturk, R., Nohutcu, L., Tuncturk, M., 2022. Effects of rhizobacteria and algal species on physiological and biochemical parameters in *Calendula officinalis* L. under different irrigation regimes. *Journal of Elementology*, 27(1): 87-97.
- Shakiba, M.R., Dabbagh, A., Mohammadi, S.A., 2010. Effects of drought stress and nitrogen nutrition on seed yield and proline content in bread and durum

- wheat genotypes. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8(3&4): 857-860.
- Sülü, S.M., Bozkurt, İ.A., Soylu, S., 2016. Bitki büyüme düzenleyici ve biyolojik mücadele etmeni olarak bakteriyel endofitler. *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1): 103-111.
- Şelem, E., Nohutçu, L., Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., 2021. The effect of plant growth promoting rhizobacteria applications on some growth parameters and physiological properties of marigold (*Calendula officinalis* L.) plant grown under drought stress conditions. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 31(4): 886-897.
- Tunçtürk, M., Rezaee Danesh, Y., Tunçtürk, R., Oral, E., Najafi, S., Nohutçu, L., Jalal, A., da Silva Oliveira, C.E., Filho, M.C.M.T., 2023. Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) response to cadmium stress: Morpho-physiological traits and mineral concentrations. *Life*, 13(1): 135.
- Tunçtürk, R., Tunçtürk, M., Oral, E., 2021. Kuraklık stresi koşullarında yetiştirilen soya fasulyesinin (*Glycine max* L.) bazı fizyolojik özellikleri üzerine rizobakterium (PGPR) uygulamalarının etkisi. *Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(2): 359-368.
- Uçar C., Akköprü, A., 2022. Domateste *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*'in ikincil enfeksiyonuna karşı endofitik bakterilerin biyokontrol kapasitesinin belirlenmesi. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 26(1): 50-59.
- Yolci, M.S., Tuncturk, R., Eryigit, T., Tuncturk, M., 2022. Boron toxicity and PGPR phytoremediation effects on physiological and biochemical parameters of medical sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Elementology*, 27(4): 1021-1036.
- Zhang, W., Xie, Z., Zhang, X., Lang, D., Zhang, X., 2019. Growth-promoting bacteria alleviates drought stress of *G. uralensis* through improving photosynthesis characteristics and water status. *Journal of Plant Interactions*, 14(1): 580-589.

ALINTI: Şelem, E., Uçar, C.P., Tunçtürk, R., Akköprü, A., Tunçtürk, M., 2023. Aynısefa (*Calendula officinalis* L.)'nin Kimyasal, Fizyolojik ve Morfolojik Gelişim Parametreleri Üzerine Bazı Endofitik Bakterilerin Etkisi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 10(3): 300-307.

CITATION: Şelem, E., Uçar, C.P., Tunçtürk, R., Akköprü, A., Tunçtürk, M., 2023. Effect of Some Endophytic Bacteria on Chemical, Physiological and Morphological Developmental Parameters of Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Turkish Journal of Agricultural Research*, 10(3): 300-307. (In Turkish).