

Buğday Kök Bölgesinden İzole Edilen Bakterilerin Buğday Gelişimine Olan Etkilerinin Belirlenmesi

Meryem ÇELİKTE İ. Adem BOZKURT

Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fak. Bitki Koruma Böl., 31000, Hatay

Özet

Bitki köklerinde kolonize olabilen ve bitkiler ile simbiyotik bir ilişki içerisinde bulunan kök bakterileri, biyogübre olarak kullanılan mikroorganizmaların büyük bir grubunu oluşturmaktadır. Canlı mikroorganizmalar içeren biyogübreler tohumla, bitki yüzeyine ve toprağa uygulandığında kök yüzeyi veya bitki iç dokularında kolonize olabilmekte ve bitkilerin ihtiyacı olan temel bileşikleri sağlayarak bitki gelişimini arttırmaktadırlar. Bu çalışmada sağlıklı buğday bitkilerinin köklerinden elde edilen bitki gelişimini teşvik eden bakterilerin (PGPR) buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkilerinin gelişimine etkileri incelenmiştir. PGPR bakterilerinin izolasyonu amacıyla Hatay ilinde 9 farklı bölgeyi temsil eden buğday tarlalarından kök örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerden 120 bakteri izole edilmiş ve MALDI-TOF ile tanısı yapılan bakteri izolatlarının *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia*, ve *Corynebacterium* cinslerine ait olduğu saptanmıştır. Bakteri izolatları arasında 73 PGPR izolatı buğday tohumlarına uygulanmış olup, kök ve sürgün gelişimine etkileri belirlenmiştir. Bakteri uygulanan tohumlar *in vitro* koşullarda kök gelişimini kontrol uygulamasına göre %7.1 ile %70.6 oranlarında, sürgün gelişiminde ise %6.6 ile %108.6 oranlarında arttırmıştır. Kök gelişimine etkide en etkili izolat %70.6 ile *Bacillus pumilis* 10ASO2 izolatı olurken, sürgün gelişiminde ise en etkili izolat %108.6 ile *Acinetobacter lwoffii* 4ZLF10 izolatı olarak saptanmıştır. Bununla beraber tohum çimlenme testinde 4 izolat (*Pseudomonas libanensis* 1KRK10, *Pseudomonas kilonensis* 3KRK7, *Corynebacterium urealyticum* 6ALD5 ve *Bacillus pumilis* 10ASO1) kök gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir. Ayrıca PGPR bakteri izolatlarının fosfat çözme kapasiteleri ve siderofor üretim miktarları belirlenmiştir. Fosfat çözünürlüğü testinde en etkili PGPR izolatı *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 olarak belirlenirken, siderofor üretiminde ise en etkili izolat *Bacillus mojavensis* 5DRC4 olarak saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: PGPR, buğday, biyogübre, fosfat çözünürlüğü, siderofor

Determination of Efficacies of Bacteria Isolated From Wheat Rhizospheres on Plant Growth Abstract

Rhizobacteria are root-colonizing bacteria that form symbiotic relationships with many plants. They are an important group of microorganisms used in biofertilizer. Biofertilizer is a substance which contains living microorganisms which, when applied to seeds, plant surfaces, or soil, colonize the rhizosphere or the interior of the plant and promotes growth by increasing the supply or availability of primary nutrients to the host plant. In this study isolation and possible use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from roots of healthy wheat plants were investigated. Plant root samples were collected from several fields in 9 different region of Hatay province and used for isolating putative PGPR isolates. From these plant samples, total of 120 bacterial isolates were obtained and identified by using MALDI-TOF instrument. All bacterial isolates were identified as belonging to *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* and *Corynebacterium* genera.

Among these isolates, 73 different PGPR isolates were used as seed treatment and growth parameters of wheat seeds such as root and shoot lengths were recorded. Bacterial isolates promoted root length by 7.1-70.6%, shoot length by 6.6-108.6% in comparison to control treatment. The most effective PGPR isolates for promoting root and shoot length were recorded with *Bacillus pumilis* 10ASO2 (70.6%) and *Acinetobacter lwoffii* 4ZLF10 (108.6%) isolates, respectively. On the other hand, four bacterial isolates (*Pseudomonas libanensis* 1KRK10, *Pseudomonas kilonensis* 3KRK7, *Corynebacterium urealyticum* 6ALD5 and *Bacillus pumilis* 10ASO1) had negative (suppressive) effect on root development. Modes of action of PGPR such as solubilizing phosphorus and siderophore production were also determined. *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 and *Bacillus mojavensis* 5DRC4 isolates were recorded as the most efficient PGPR isolates for solubilizing phosphorus and siderophore production, respectively.

Key words: PGPR, wheat, biofertilizer, phosphate solubility, siderophore

Giriş

Buğday (*Triticum* spp.) çok eski zamanlardan beri tarımı yapılan ve başlıca besin kaynağı olarak tüketilen bir bitkidir. Yapılan kazılarda ortaya çıkarılan buğday tohumlarının incelenmesi sonucu buğdayın M.Ö 7000 yıllarında kültüre alındığı anlaşılmıştır. Buğday bitkisinin kökeninin Güneybatı Asya olduğu kabul edilmekle birlikte; Türkiye, Suriye, Irak ve Kafkasya'da yabancı buğday türlerinin bulunduğu bu yüzden de bu bölgenin gen merkezi olarak kabul edilmesi gerektiği belirtilmektedir (Harlan ve Zohary, 1966). FAO'nun 2013 verilerine göre, dünya genelinde buğday üretim alanı 218 milyon hektar olup, toplam üretim ise 713 milyon tondur. Ülkemiz 22 milyon ton buğday üretimi ile Dünya buğday üretiminde 11. sırada yer almaktadır (Anonymous, 2013). Birçok tarımsal üründe olduğu gibi buğday üretiminde de gübreleme önemli bir rol oynamaktadır. Bitkilerin yaşamlarını devam ettirebilmeleri buldukları ortamda yeteri kadar besin elementi olmasına bağlıdır. Toprak tabii olarak çok sayıda mineral maddeyi yapısında bulundurur. Ancak bunların miktarları her zaman yeterli seviyede değildir. Özellikle üzerinde bitki yetiştirilen topraklar zamanla besin elementleri yönünden fakirleşir. Bu bağlamda üretimini yaptığımız bitkilerden yeterli miktar ve kalitede ürün alabilmemiz toprakta eksilen mineral besin elementlerinin takviye edilmesine bağlıdır. Bitki beslemenin önemi burada başlar. Bitkiler topraktan yıllık

önemli miktarlarda besin elementi kaldırırılar. Kaldırılan bu besin elementleri ikame edilemez ise bitkilerde bir takım beslenme bozuklukları ve verim düşüşleri görülür. Bu durumun önlenmesi için gerekli besin elementlerinden yeteri kadar takviye yapılmalıdır. Geleneksel tarımda önemli bir girdi olan gübre; miktar, uygulama zamanı ve şekli iyi planlandığında ve bilinçli kullanıldığında ürünün verim ve kalitesine olumlu yansımalar yapmaktadır. Fakat bu optimum koşullar dışına çıktığında ise önemli problemlere yol açmaktadır (İrget ve ark., 2005).

Özellikle 1970'li yıllarda "yeşil devrim" olarak anılan politikalarla tarımsal üretimde birim alandan maksimum ürün alabilmek için yıllarca yoğun şekilde kimyasal pestisit ve gübre kullanılmıştır. 1980'li yıllara gelindiğinde ise bu uygulamaların sonucunda çevrenin geri dönülemez biçimde kirlenip doğal dengenin tahrip olmaya başladığı anlaşılmıştır (Aksoy ve ark., 2005).

Yoğun şekilde ve bilinçsizce kimyasal gübre kullanımının neden olduğu zararlara genel olarak incelenecek olursa bunlar;

- Yer altı ve yer üstü sularının kirlenmesi,
- Toprağın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemesi,
- Dolaylı veya doğrudan bitki gelişimini olumsuz etkilemesi,
- Gıdalarda nitrat birikimi,
- Küresel ısınma, olarak görülebilir.

Tarımsal üretimde kullanılan kimyasal gübrelerin gerek insan sağlığı gerekse doğal doğal denge ve çevre üzerindeki bu tür olumsuz etkilerinin artarak kendini hissettirmesi nedeniyle son yıllarda bu tür kimyasalların hiç ya da mümkün olduğu kadar az kullanıldığı bunların yerine organik veya biyolojik gübrelerin (biyogübre) kullanıldığı alternatif yöntemler geliştirilmektedir. Temel amacı toprak ve su kaynaklarını kirletmeden, çevre, bitki ve insan sağlığını koruyarak üretim yapmak olan organik tarımda, biyolojik gübreler önemli bir yer tutmaktadır. Tohum, bitki yüzeyi veya toprağa uygulandığında bitkilere temel besin elementlerini sağlayabilen veya besin alımını arttıran, rizosferde kolonize olabilen, canlı mikroorganizmalardan üretilen gübrelere biyogübre veya biyolojik gübre denir. (Vessey, 2003). Biyogübre olarak adlandırılan mikroorganizmaların en önemli grubunu PGPR olarak bilinen, bitki gelişimini arttıran kök bakterileri oluşturmaktadır (Sülü ve ark., 2016). PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) terimi ilk olarak 1978 yılında Klopper ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (Klopper ve Schrot, 1978). Bitki gelişimini teşvik eden kök bakterileri genel olarak; *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Paenibacillus*, *Arthobacter*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Comamonas*, *Hydrogenophaga*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Klebsiella*, *Xanthomonas*, *Serratia*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* gibi cinslerde yer aldığı görülmektedir. Bu cinsler arasında özellikle *Pseudomonas*, *Burkholderia* ve *Bacillus*'lar bitki gelişimini uyarmaları yanında bitki patojenlerine karşı antagonistik etkilerinden dolayı da dikkat çekmektedirler. Örneğin; *Burkholderia cepacia* bakterisi, *Fusarium* türlerine karşı biyokontrol özelliği gösterirken özellikle demirce fakir topraklarda siderofor üretimi ile mısır gelişimini teşvik etmektedir (Vessey, 2003). Farklı *Bacillus* ve *Pseudomonas* spp ait kök bakteri izolatları sebzelerde sorun olan kök ve kökboğazı çürüklüğü hastalık etmenlerine karşı kuvvetli antagonistik etki göstermişlerdir (Soylu ve ark., 2005; Akgül ve Mirik, 2008, Mirik ve ark., 2008; Soylu, 2011).

Bu çalışmada, buğday bitkilerinin kök bölgesinden elde edilen kök bakterilerinin, *in vitro* koşullarda buğday tohumların çimlenmesi ve gelişimine etkisi ve izole edilen kök bakterilerinin siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğü kapasiteleri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın materyalini buğday tohumları, bakteri izolatları, petri kapları, kurutma kağıtları, besi ortamları, bakteri tanısında kullanılan MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry), materyallerin sterilizasyonda kullanılan otoklav ve etüv, steril kabin gibi aletler ve ekipmanlar oluşturmuştur.

PGPR Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı

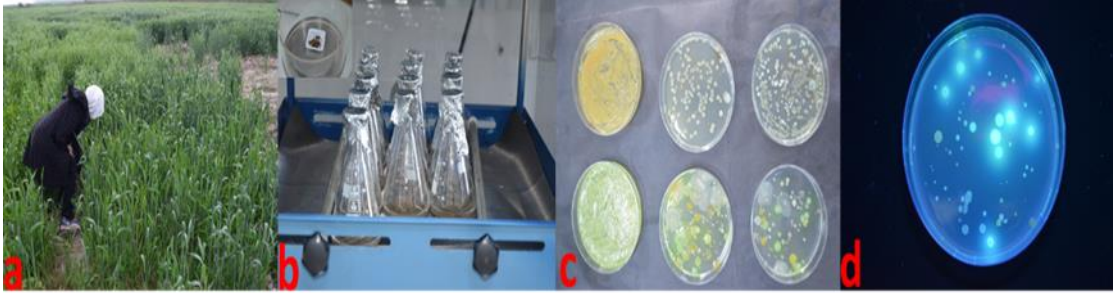
Denemede kullanılan bakteriler Hatay ilinde buğday üretimi yapılan bitkilerin köklerinden izole edilmiştir (Şekil 1a). Alınan kök örnekleri (1 gr tartılarak) 100 ml fosfat tamponu içerisinde 30 dk. çalkalandıktan (Şekil 1b) sonra oluşan süspansiyondan seyreltme serileri yapılmış ve 100 µl alınarak KB besiyeri içeren petrilere bagetle yayılıp 24±1°C'ye ayarlı inkübatörlere yerleştirilmiştir. İnkübasyondan 48 saat sonra petride gelişen koloniler UV ışık altında (360 nm) floresans pigment oluşturan ve oluşturmayanlar olarak iki gruba ayrılmıştır (Şekil 1 c,d). UV ışık altındaki pigmentasyon durumlarına göre saflaştırılan bakteriler daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere NGA besiyerinde çoğaltılıp +4°C'de saklanmıştır. PGPR adaylarının tanısı Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) yöntemiyle yapılmıştır.

PGPR İzolatlarının Buğday Çimlenmesine Olan Etkilerinin in vitro Koşullarda Belirlenmesi

İzolasyon işlemi sonrası gelişen bakterilerin buğday tohumlarının gelişimi üzerlerine etkilerinin belirlenmesi 12 cm'lik petri kaplarında yapılmıştır. Bu amaçla NGA besi yerine geliştirilen bakterilerden NA agar içeren petrilere ekimi yapılmış ve 48 saatlik inkübasyon sonrası gelişen bakteriler %1'lik CMC (CarboxyMethylCellulose) ile süspanse

(10^8 cfu/ml) edilmiştir. Oluşan süspansiyonun içerisine %1'lik sodyum hipoklorür ile yüzey dezenfeksiyonu yapılmış buğday tohumları konulmuş, çalkalayıcı inkübatörde 30 dk. 26 °C'de çalkalanarak bakterilerin tohum yüzeyine yapışması sağlanmıştır. Her bakteri izolatu için 10 adet tohum kullanılmıştır. Tohumlar bakteriler ile kaplama işlemi sonrası içerisinde steril saf su ile nemlendirilmiş steril kurutma kağıtları bulunan 12 cm'lik petrilere yerleştirilmiştir. Petriler inkübatörlerde 27

°C'de 7 gün bekletilmiş ve daha sonra çimlenen tohumların kök ve sürgün gelişimleri ölçülmüştür (Şekil 2). Denemede kontrol olarak yalnızca %1'lik CMC ile muamele edilmiş tohumlar kullanılmıştır. Deneme 3 kez yinelenerek bakterilerin kontrole göre buğday kök ve sürgün gelişimine ve çimlenme üzerine etkileri araştırılmıştır.



Şekil 1. Tarladan kök bakterisi izolasyonu için buğday örneklerinin alınması (a), alınan kök örneklerinin çalkalanması (b), izolasyon sonucu gelişen bakteri kolonileri (c) ve UV ışık altında floresan pigment üreten bakteriler (d).

Figure 1. Collecting root samples from wheat field for rhizobacteria isolation and prepared in shaking incubator (a,b), bacterial colonies after isolation and inoculation (c), fluorescent pigment production under the UV lamp (d).



Şekil 2. Buğday tohumlarına PGPR izolatlarının bulaştırılması ve uygulama sonrası petrilere çimlenen tohumlar.

Figure 2. Contamination of the wheat seeds with PGPR isolates and seed germination on petri dishes after treatment.

PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarını Belirlenmesi

Siderofor Üretimini Belirlenmesi

PGPR bakterilerin siderofor üretimlerinin belirlenmesinde Blue-CAS Agar (Klement ve ark., 1990) besi yeri kullanılmıştır. King B besi ortamına ekimi yapılarak inkübatörde geliştirilen 48 saatlik bakteri kültürlerinden Blue-CAS agar ortamına nokta ekim yapılmıştır. Ekim yapılan Blue-CAS agar içerikli petripler 24°C'de 2 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda nokta ekim yapılan koloni çevresindeki portakal renkli alanın meydana gelmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiş ve bu alanın çapı ve koloni çapı ölçülerek siderofor üretim indeksleri belirlenmiştir.

Fosfat Çözünürlüğü Testi

In vitro'da kök bakterilerinin fosfatı çözme aktivitesini belirlemek amacıyla NBRIB besiyeri (Nautiyal, 1992) içeren petri kaplarına 4 noktaya ekim şeklinde inokule edilmiş ve 24±2°C'de 14 gün inkübasyona bırakılmış kök bakterilerinin inkübasyon süresi sonunda kolonilerin çevresinde fosfat aktivitesine bağlı olarak oluşan erime zonları ölçülmüş ve çözünürlük indeksi, aşağıda gösterilen çözünürlük indeks formülü (SI) (Vazquez ve ark., 2000) ile belirlenmiştir. $SI = (\text{koloni çapı} + \text{zone çapı}) / (\text{koloni çapı})$

Tütün Aşırı Duyarlılık Testi

PGPR aday izolatların bitki patojeni olup olmadığının belirlenmesi amacı ile saflaştırılan izolatlarla tütünde aşırı duyarlılık testi (Hypersensitive Reaction, HR) yapılmıştır. HR testinde 2 günlük bakteri kültürleri 10⁸ cfu/ml (OD= 0.13) yoğunlukta süspansiyon edilerek tütün yapraklarına enjekte edilmiştir. Negatif kontrol olarak yapraklara steril saf su inokule edilmiş, pozitif kontrol olarak ise maydanoz patojeni olan *Pseudomonas syringae* pv *apii* ve nar patojeni olan *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* izolatı kullanılmıştır. İnokulasyondan 2 gün sonra inokulasyon noktasında doku çökmelerine neden olan izolatlar HR (+) olarak kabul edilmiştir.

Deneme Deseni ve İstatistiksel Analizler

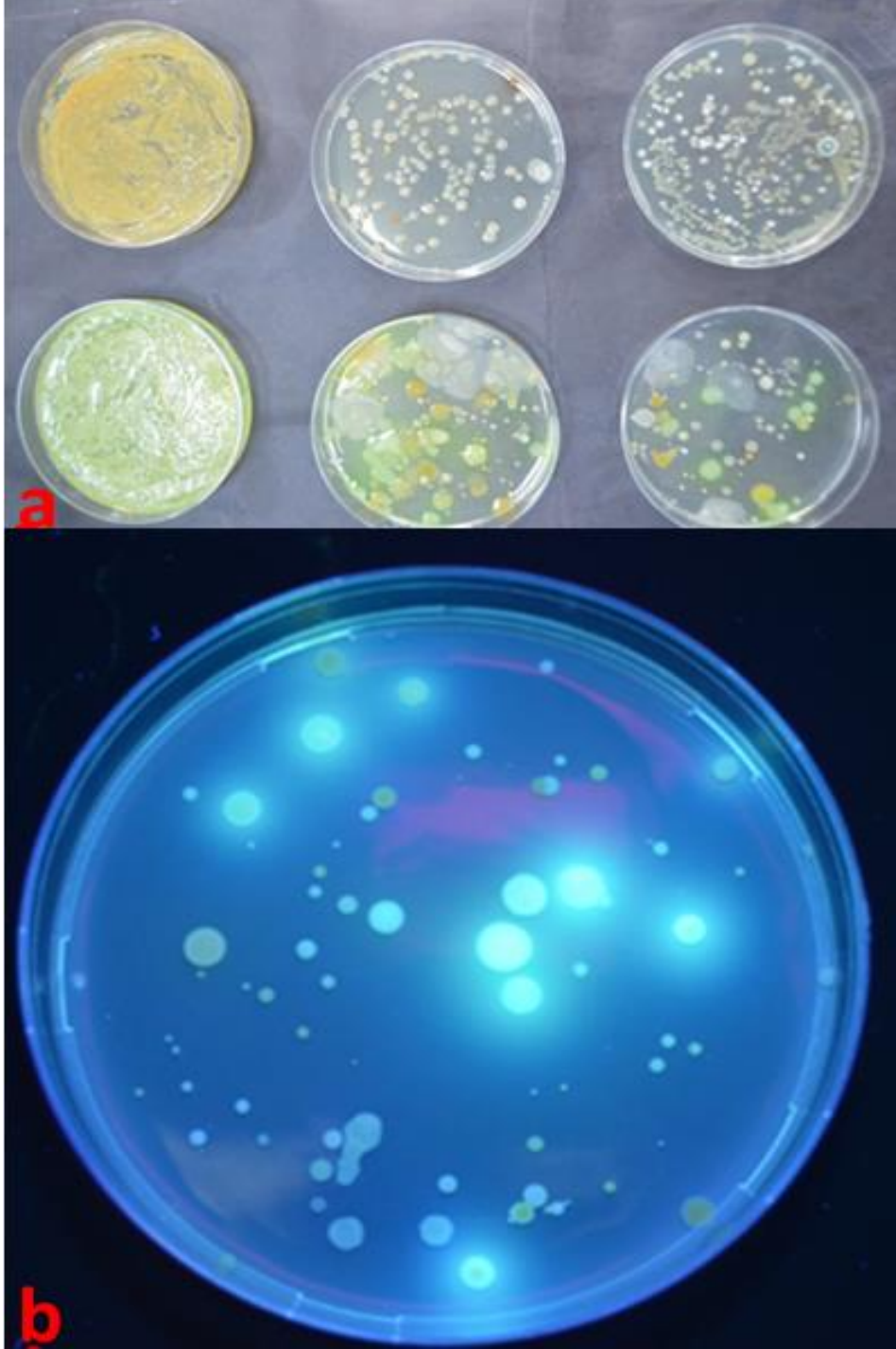
Tüm *in vitro* denemelerinde her petri 1 tekerrür ve her izolat da 3 tekerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen ölçüm değerleri (tohum çimlenmesi, kök ve sürgün uzunluğu, siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğü değerleri) SPSS istatistik programı (SPSS Inc., versiyon 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve Duncan's çoklu karşılaştırma testi (P≤0.05) ile uygulamalar (PGPR izolatları) arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

PGPR Adayı Bakteri İzolatlarının İzolasyonu ve Tanısı

Araziden toplanan buğday köklerinden materyal yöntemde anlatıldığı şekilde izolasyonlar yapılmış ve toplam 120 bakteri izolatı elde edilmiştir (Şekil 3a). Elde edilen izolatlar ilk aşamada UV (365 nm) ışık altında floresans veren ve vermeyen olarak gruplandırılmıştır. Bakteri izolatlarından 33 tanesi UV ışık altında parlama göstermiştir (Şekil 3b)

İzolasyon sonucu elde edilen bakterilerin tanısı MALDI-TOF yöntemi ile yapılmış sonuçları Çizelge 1'de verilmiştir.



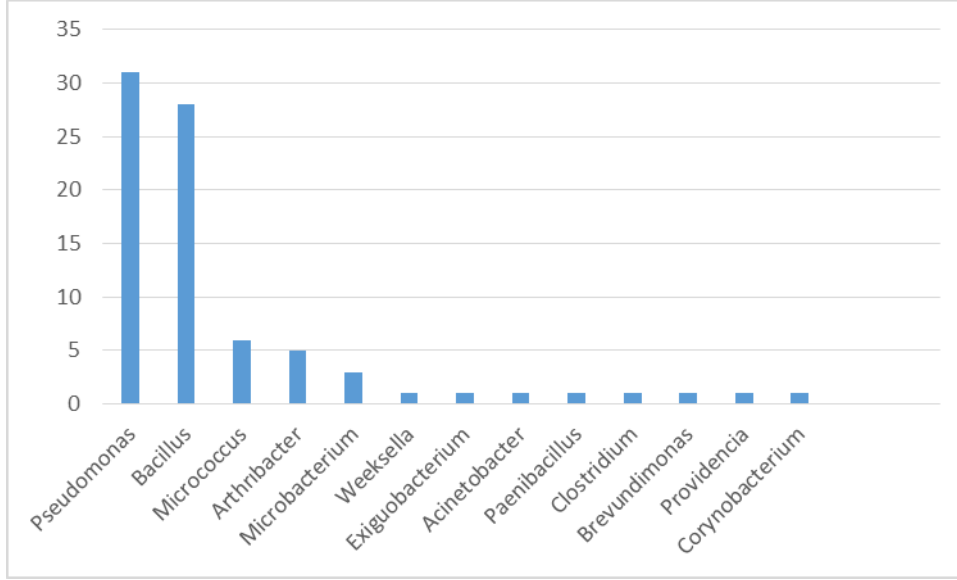
Şekil 3. KB besiyerinde gelişen bakteri kolonileri (a) ve UV ışık altında floresan parlama gösteren *Pseudomonas* kolonileri.

Figure 3. Bacterial colonies on KB media (a), and fluorescent pigmentation under the UV lamp (b).

Çizelge. 1. Tanısı yapılan bakteri izolatları ve izolat numaraları
Table 1. Identified bacterial isolates and numbers of the isolates

Bitki no	İzolat no	Tanı sonucu	Bitki no	İzolat no	Tanı sonucu
1KRK	1	<i>Bacillus atropheus</i>	5DRC	1	<i>Pseudomonas cedrina</i>
	2	<i>Bacillus mojavensis</i>		3	<i>Clostridium beijerinckii</i>
	3	<i>Bacillus subtilis</i>		4	<i>Bacillus mojavensis</i>
	4	<i>Bacillus subtilis</i>		7	<i>Micrococcus luteus</i>
	5	<i>P. frederiksbergensis</i>		8	<i>Bacillus simplex</i>
	6	<i>Bacillus subtilis</i>		12	<i>Microbacterium saperdae</i>
	7	<i>Weeksella virosa</i>		13	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	8	<i>P. proteolytica</i>		14	<i>Microbacterium phyllosphaerae</i>
	9	<i>P. extremorientalis</i>		17	<i>P. proteolytica</i>
	10	<i>P. libanensis</i>		18	<i>Brevundimonas diminuta</i>
3KRK	1	<i>P. cedrina</i>	6ALD	21	<i>Bacillus megaterium</i>
	2	<i>Bacillus pumilus</i>		22	<i>Microbacterium hydrocarbonoxydans</i>
	3	<i>P. brassicacearum</i>		23	<i>Providencia rettgeri</i>
	5	<i>Arthrobacter sulfureus</i>		1	<i>P. brassicacearum</i>
	7	<i>P. kilonensis</i>		2	<i>P. brassicacearum</i>
	10	<i>Arthrobacter sulfureus</i>		5	<i>Corynebacterium urealyticum</i>
	11	<i>Bacillus pumilus</i>		9	<i>Bacillus pumilus</i>
	13	<i>Bacillus pumilus</i>		11	<i>Bacillus altitudinis</i>
	14	<i>Arthrobacter sulfureus</i>		12	<i>Bacillus pumilus</i>
	15	<i>Bacillus cereus</i>		13	<i>P. kilonensis</i>
4ZLF	16	<i>Arthrobacter arilaitensis</i>	8ALD	15	<i>Bacillus pumilus</i>
	1	<i>Arthrobacter polychromogenes</i>		1	<i>P. brassicacearum</i>
	2	<i>P. extremorientalis</i>		2	<i>P. kilonensis</i>
	3	<i>Micrococcus luteus</i>		3	<i>P. chlororaphis</i>
	6	<i>Bacillus cereus</i>		4	<i>P. kilonensis</i>
	7	<i>Exiguobacterium aurantiacum</i>		5	<i>P. brassicacearum</i>
	8	<i>Bacillus simplex</i>		6	<i>P. brassicacearum</i>
	9	<i>Bacillus niacini</i>		7	<i>P. corrugata</i>
	10	<i>Acinetobacter lwoffii</i>		8	<i>Bacillus megaterium</i>
	11	<i>P. koreensis</i>		9	<i>P. cedrina</i>
10ASO	13	<i>Paenibacillus illinoisensis</i>	9AKO	10	<i>Micrococcus luteus</i>
	14	<i>Bacillus simplex</i>		13	<i>P. corrugata</i>
	15	<i>Bacillus altitudinis</i>		14	<i>P. brassicacearum</i>
	16	<i>Bacillus simplex</i>		16	<i>P. brassicacearum</i>
	17	<i>P. extremorientalis</i>		17	<i>P. brassicacearum</i>
	1	<i>Bacillus pumilus</i>		18	<i>Micrococcus luteus</i>
	2	<i>Bacillus pumilus</i>		8	<i>Micrococcus luteus</i>
	4	<i>P. kilonensis</i>		11	<i>P. corrugata</i>
	5	<i>Bacillus pumilus</i>		12	<i>Bacillus pumilus</i>
	6	<i>Micrococcus luteus</i>		9	<i>P. cedrina</i>
9	<i>Bacillus megaterium</i>	11	<i>Bacillus pumilus</i>		
10ASO			11ASO	14	<i>Micrococcus luteus</i>

Tanı sonuçları incelendiğinde cins düzeyinde ilk sırayı 32 izolatla *Pseudomonas* cinsi alırken bunu 29 izolatla *Bacillus*, 7 izolatla *Micrococcus*, 5 izolatla *Arthrobacter* ve diğerleri izlemiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Tanısı yapılan PGPR izolatların cins düzeyinde dağılımı
Figure 4. PGPR isolates identified as a genus

Şekil 4’de cins düzeyinde verilen bakterilerin birçoğunun bitki gelişimine olumlu etkileri çeşitli çalışmalarda belirtilmektedir. Özellikle *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Paenibacillus* cinslerine ait bakterilerin birçok bitkiden izole edildiği ve bunların çoğunun bitki gelişimini arttırıcı etkileri bulunduğu bilinmektedir (Hurek ve Reinhold-Hurek, 2003; Turan ve ark., 2014; Sahin ve ark., 2015). Bu genuslar içerisinde özellikle *Pseudomonas* ve *Bacillus* cinsine ait bakteriler hem bitki gelişimini arttırıcı özellikleri hem de biokontrol özellikleri açısından ön plana çıkmakta olup günümüzde birçok çalışmada en yaygın olarak göze çarpan bakterilerdir (Kumar ve ark., 2011; Sülü ve ark., 2016). Ayrıca yapılan bu çalışmada izole edilen ve tanısı yapılan *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Microbacterium*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynebacterium* cinslerine ait bakterilerin buğday, mısır, pirinç, pamuk ve inci darısı gibi birçok bitki rizosferinden izole edildiği ve bitki gelişimini arttırıcı etkilerinin bulunduğu

birçok çalışmada bildirilmiştir (Dastager ve ark., 2010; Zamin ve ark., 2011; Rana ve ark., 2011; Shrivastava ve Kumar, 2013; Dinesh ve ark., 2014; Kumar ve Gera, 2014; Rawat ve Mushtaq, 2015). *Weeksella virosa* izolatı ise insan patojeni olarak bildirilmiş olup (Slenker ve ark 2012) yapılan çalışmada elemine edilmiştir.

PGPR İzolatlarının in vitro Koşullarda Buğday Kök ve Sürgün Gelişimine Etkilerinin Belirlenmesi

In vitro kök ve sürgün gelişimine etki denemelerinde PGPR adayı bakteriler ile muamele görmüş tohumlardan gelişen kök ve sürgünler (Şekil 5) inkübasyondan 7 gün sonra ölçülerek bakterilerin kontrol uygulamasına göre etkinliği belirlenmiştir (Çizelge 2).



Şekil 5. *In vitro* sürgün ve kök gelişimi
Figure 5. *In vitro* shoot and root growth

Çizelge 2. Bakteri izolatlarının *in vitro* buğday kök ve sürgün gelişimine etkileri
Table 2. Effect of bacterial isolates on *in vitro* wheat root and seed growth

İzolat	Kök (cm)	% Etki	Sürgün (cm)	% Etki	İzolat	Kök (cm)	% Etki	Sürgün (cm)	% Etki
Kontrol	8,96	0	5,5	0,0	5DRC7	15,27	70,4	9,9	80,9
1KRK1	13,32	48,6	10,4	90,4	5DRC8	14,09	57,2	9,6	76,0
1KRK2	13,01	45,1	8,8	60,2	5DRC12	11,32	26,3	9,8	79,5
1KRK3	11,53	28,6	10,7	95,1	5DRC13	11,86	32,3	9,1	67,2
1KRK4	11,76	31,2	9,2	68,8	5DRC14	11,17	24,6	8,6	57,7
1KRK5	11,47	28,0	6,7	23,0	5DRC17	13,08	46,0	9,0	64,7
1KRK6	11,28	25,8	7,7	41,2	5DRC18	13,01	45,2	11,3	105,9
1KRK8	12,23	36,5	8,9	62,4	5DRC21	10,86	21,2	9,3	70,6
1KRK9	7,88	-12,1	6,8	25,1	5DRC22	12,26	36,8	8,7	59,1
1KRK10	11,47	28,0	8,9	62,7	5DRC23	12,77	42,5	8,9	62,4
3KRK1	11,52	28,5	8,6	57,6	6ALD1	14,30	59,6	9,9	80,8
3KRK2	9,68	8,0	9,2	68,5	6ALD2	8,85	-1,2	8,0	46,0
3KRK3	10,93	22,0	8,7	58,6	6ALD5	14,01	56,3	10,4	90,7
3KRK5	8,27	-7,7	10,8	97,3	6ALD11	13,35	48,9	10,5	92,8

Çizelge 2'nin devamı / Table 2 continued

İzolot	Kök (cm)	% Etki	Sürgün (cm)	% Etki	İzolot	Kök (cm)	% Etki	Sürgün (cm)	% Etki
3KRK7	10,05	12,1	8,3	52,5	6ALD12	13,56	51,3	9,8	79,0
3KRK10	10,07	12,4	10,7	96,0	6ALD13	12,64	41,0	9,2	68,0
3KRK11	13,99	56,1	8,4	53,6	6ALD15	15,19	69,5	9,8	79,3
3KRK13	11,98	33,7	7,1	29,3	8OTM1	14,24	58,9	10,1	84,8
3KRK14	10,21	14,0	5,8	6,6	8OTM2	11,87	32,4	8,6	58,2
3KRK15	12,14	35,5	7,9	45,2	8OTM3	10,82	20,7	8,4	54,5
3KRK16	9,60	7,1	8,2	49,5	8OTM4	13,15	46,7	9,6	76,0
4ZLF1	11,59	29,3	7,5	38,0	8OTM5	11,43	27,5	9,4	72,1
4ZLF3	13,99	56,1	8,0	45,5	8OTM6	15,08	68,3	10,0	83,1
4ZLF6	12,95	44,5	9,4	71,4	8OTM8	13,72	53,1	9,4	72,6
4ZLF7	10,56	17,9	7,4	35,7	8OTM9	13,42	49,8	9,8	78,4
4ZLF8	13,27	48,1	10,0	82,5	8OTM12	14,30	59,5	8,5	55,8
4ZLF9	9,62	7,4	6,5	18,2	8OTM13	13,65	52,3	9,6	76,3
4ZLF10	13,52	50,9	11,4	108,6	8OTM14	13,85	54,5	9,8	78,6
4ZLF11	10,19	13,7	9,0	64,2	8OTM16	10,49	17,1	8,7	59,2
4ZLF13	11,57	29,1	8,7	59,0	8OTM18	7,80	-13,0	8,4	52,9
4ZLF14	10,73	19,8	9,2	68,2	10ASO1	13,84	54,4	10,3	88,0
4ZLF15	10,52	17,4	8,9	62,4	10ASO2	15,29	70,6	10,3	88,8
4ZLF16	11,91	32,9	7,6	38,7	10ASO4	15,11	68,6	11,0	101,7
4ZLF17	12,01	34,0	9,6	75,8	10ASO6	11,39	27,1	9,9	81,5
5DRC1	12,52	39,7	9,9	80,3	10ASO9	14,56	62,5	11,1	102,3
5DRC3	14,06	56,9	10,7	96,2	11ASO11	12,36	37,9	9,9	81,4
5DRC4	14,52	62,1	8,2	50,0	11ASO14	13,22	47,5	10,1	84,5

Test edilen izolatlardan 69'u kontrol uygulamasına kıyasla kök uzunluğunda %7,1-70,6 oranında artışa neden olmuştur. Sürgün gelişimi açısından bakıldığında izolatların tamamı sürgün gelişimini pozitif şekilde arttırarak kontrol uygulamasına kıyasla sürgün uzunluğunda %6,6-108,6 oranında artışa neden olmuştur. Kök gelişimi üzerine en etkili izolat %70,6 ile *Pseudomonas pumilis* 10ASO2 izolatı olmuştur. Sürgün gelişiminde ise kontrole göre % 108,6 oranında etki ile *Acinetobacter lwoffii* 4ZLF10 izolatı olmuştur. *In vitro* koşullarda PGPR'ların buğday, mısır ve ayçiçeği gibi bir çok bitkide tohum çimlenmesi, kök ve sürgün gelişimini arttırdığına dair birçok çalışma bulunmakta olup elde edilen sonuçlar yapılan bu çalışma ile paralellik göstermektedir (Gholami ve ark., 2009, Shaukat ve ark., 2006; Shaukat ve ark., 2006.)

Kök ve sürgün gelişimi testlerinde 4 izolat ise (*Pseudomonas extremorientalis* 1KRK9, *Arthrobacter sulfureus* 3KRK5, *Pseudomonas brassicacearum* 6ALD2,

Micrococcus luteus 8OTM18) kök gelişimini olumsuz etkileyerek kontrolden daha düşük değerler almıştır.

Özellikle *Bacillus* ve *Pseudomonas* cinsi bazı bakterilerin bitki gelişimini arttırıcı etkileri yanında bazı bitki tohumlarının çimlenmesini engellediği de bilinmektedir. *Pseudomonas fluorescens* bakterisi bazı çalışmalarda deleterious (zararlı) rizobakter (DRB) olarak tanımlanırken (Zdor ve ark., 2005), bir başka çalışmada ise PGPR olarak tanımlanmıştır (Jaleel ve ark., 2007). Vrbničanin ve ark., (2011) tarafından yapılan bir çalışmada bazı kök bakterilerin *Ambrosia artemisiifolia* (Arsız zaylan) tohumlarının çimlenmesini engellediği saptanmıştır. Yaptıkları çalışmada özellikle *Bacillus licheniformis* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin tohum çimlenmesini engellediği saptamışlardır.

PGPR İzolatlarının Etki Mekanizmalarının Belirlenmesi

Fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretiminin belirlenmesi çalışmalarında kök ve sürgün gelişiminde kontrole göre % 35 ve üzeri artışa neden olan izolatlar seçilerek bu izolatların fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretim oranları belirlenmiştir.

Fosfat Çözünürlüğü Testi

Fosfat çözünürlüğü testinde NBRIB Agar ortamına nokta ekimi yapılan izolatların etrafında inkübasyondan 1 hafta sonra oluşan şeffaflaşmalar ölçülerek materyal yöntem kısmında bahsedildiği şekilde fosfat çözünürlüğü indeksleri hesaplanmıştır (Çizelge 3).

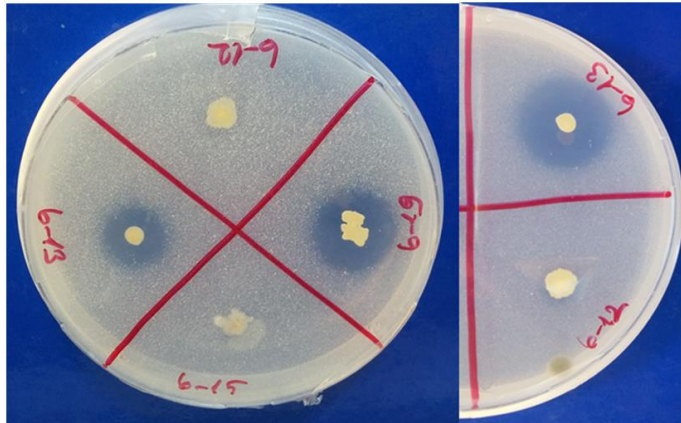
Çizelge 3. Bakteri izolatlarının fosfat çözünürlük indeks değerleri

Table 3. Phosphate solubility value of bacterial isolates

İzolat no	Çözünürlük indeks değerleri	İzolat no	Çözünürlük indeks değerleri
1KRK1	1,00a	6ALD12	2,17abc
1KRK4	1,00a	6ALD13	5,00f
1KRK5	4,50ef	6ALD15	1,00a
3KRK9	1,00a	8OTM1	4,00def
3KRK11	1,00a	8OTM2	3,67cdef
3KRK13	1,00a	8OTM4	3,00bcde
3KRK15	1,00a	8OTM6	4,00def
4ZLF1	2,45abcd	8OTM7	1,00a
4ZLF3	1,00a	8OTM9	1,00a
4ZLF10	1,80ab	8OTM14	1,90ab
4ZLF16	1,00a	8OTM16	3,13bcde
5DRC3	1,00a	10ASO1	2,44abcd
5DRC4	1,00a	10ASO4	2,43abcd
5DRC7	1,00a	11ASO11	1,00a
5DRC13	2,40abcd	11ASO14	1,00a

*Çözünürlük indeksi her izolat için üç kere yinelenmiş olup, iki kez tekrar edilmiştir.

**Sütün içinde verilen ortalama değerlerin yanındaki aynı harfler uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığını gösterir (Duncan's Multiple Range Test, $P \leq 0,05$).



Şekil 6. Bakteri izolatlarının fosfatı çözmesi sonucu oluşan şeffaf zonlar.

Figure 6. Clear zones that result of phosphate solubilisation bacterial isolates.

Çizelge 3'de görüldüğü üzere 30 bakteri izolatından 14 izolat fosfat çözünme testinde pozitif sonuç vermiş olup, çözünme indeksi 1,80-5,00 arasında değişiklik göstermiştir. Test edilen izolatlar arasında 16 bakteri izolatı NBRIP ortamında herhangi bir erime zonu

oluşturmamıştır. Fosfat çözünürlüğü testinde en yüksek indeks değeri 5,00 ile *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 bakterisi izolatı tarafından oluşturulmuştur (Şekil 6).

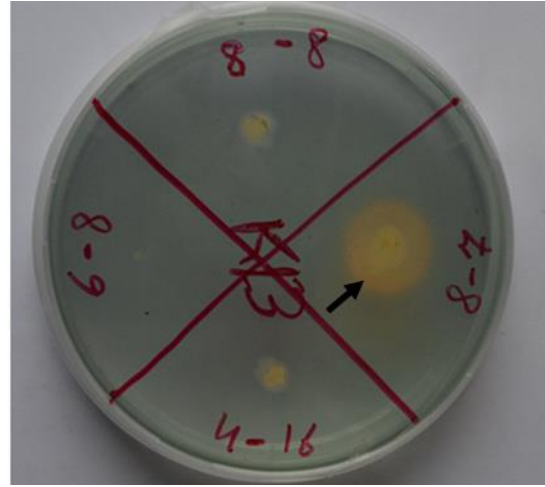
Siderofor Üretimi

Bakteri izolatlarının siderofor üretiminin belirlenmesinde modifiye Blue CAS agar yöntemi kullanılmıştır. Besi yerine nokta ekimi yapılan izolatların etrafında 48 saatlik inkübasyon sonrası oluşan turuncu renkli alanlar (Şekil 7) ölçülmüş ve siderofor üretim indeksleri belirlenmiştir. Deneme 2 kez yinelenmiş olup indeks değerleri Çizelge 4' te verilmiştir.

Tütün aşırı duyarlılık testi (HR)

Tohum çimlenme, fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretiminde etkili olan izolatların patojenisitelerinin belirlenmesi amacı ile tütün yapraklarında aşırı duyarlılık (HR) testi yapılmıştır. Test sonucunda inokulasyondan 2 gün sonra inokulasyon noktasında oluşan kuruma ve doku çökmeleri pozitif olarak kabul edilmiştir. Test sonucunda bitki patojeni türlerin inokule edildiği pozitif kontrollerde tipik HR belirtileri oluşurken, PGPR adayı izolatların biri dışında (*Pseudomonas frederiksbergensis* 1KRK5)

hiçbiri HR testinde pozitif sonuç vermemiştir (Şekil 8).



Şekil 7. CAS agarda bakteri izolatlarının siderofor üretimleri sonucu oluşan turuncu zon (ok).

Figure 7. Orange zones that result of siderophore production of bacterial isolates on CAS agar medium.

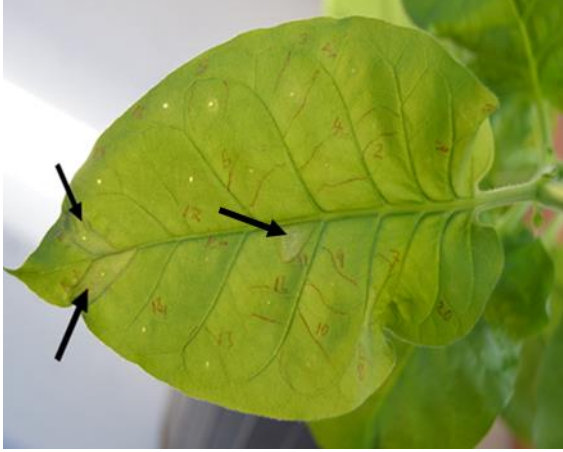
Çizelge 4. Bakteri izolatlarının siderofor üretim indeks değerleri

Table 4. Siderophore production index value of bacterial isolates

izolat no	indeks değerleri	izolat no	indeks değerleri
1KRK1	2,09b	6ALD12	2,08b
1KRK4	2,41bcd	6ALD13	3,17g
1KRK5	2,69cdef	6ALD15	2,43bcd
3KRK9	2,93efg	80TM1	3,20g
3KRK11	2,92efg	80TM2	3,29h
3KRK13	2,08b	80TM4	4,43j
3KRK15	2,85defg	80TM6	4,01i
4ZLF1	2,33bc	80TM7	3,66i
4ZLF3	2,50bcde	80TM9	2,50bcde
4ZLF10	2,14b	80TM14	3,77i
4ZLF16	2,20bc	80TM16	3,13fg

Çizelge 4'ün devamı / Table 4 continued

izolat no	İndeks değerleri	izolat no	İndeks değerleri
5DRC1	2,69cdef	10ASO1	2,64cde
5DRC4	4,78j	10ASO4	4,76j
5DRC7	2,47bcde	11ASO11	2,26bc
5DRC13	3,83i	11ASO14	2,45bcde



Şekil 8. Tütünde aşırı duyarlılık testinde HR pozitif sonuç veren izolatlar ok ile gösterilmiştir.

Figure 8. Isolates showing HR positive were indicated with arrow at the tobacco hypersensitive test

Sonuç ve Öneriler

Bitki gelişiminin ve verimin artırılması amacıyla bitkilere kimyasal gübrelerin yerine PGPR olarak adlandırılan bakterilerden üretilen biyogübrelerin uygulanması ve bu bakterilerin etki mekanizmalarının belirlenmesine yönelik çalışmalar son yıllarda farklı ülkelerde birçok araştırmacı tarafından yapılmakta ve ümitvar sonuçların elde edildiği yapılan çalışmaların sonucunda görülebilmektedir. Yapılan bu çalışmada bitki örneklerinin araziden toplanması, bakterilerin izolasyonu, saflaştırılması ve tanısı, fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretimi gibi *in vitro* etki mekanizmalarının belirlenmesi gibi aşamalar gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak;

- Bu çalışma kapsamında Hatay ilinde buğday üretimi yapılan 9 farklı tarladan buğday kök örnekleri alınmıştır.

- Saflaştırılan bakterilerin 84 tanesi MALDI-TOF ile tanılanmıştır. Tanı sonucunda cins düzeyinde ilk sırayı 32 izolatla *Pseudomonas* cinsi alırken bunu 29 izolatla *Bacillus*, 7 izolatla *Micrococcus*, 5 izolatla *Arthrobacter*, 3 izolatla *Microbacterium* ve birer izolatla ise *Paenibacillus*, *Clostridium*, *Weeksella*, *Exiguobacterium*, *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Providencia* ve *Corynebacterium* cinsleri izlemiştir.

Tohum çimlenme testlerinde bakteri ile muamele gören buğday tohumlarının kök ve sürgün gelişimleri kontrol uygulaması ile karşılaştırılarak PGPR aday izolatların kontrole göre çimlenme ve sürgün gelişimine etkileri % olarak belirlenmiştir. Deneme sonucunda 73 PGPR izolatı kontrole göre %7,1 ile %70,6 oranlarında kök gelişimini artırırken, 4 izolatın ise kontrolden daha düşük kök gelişimine neden olduğu belirlenmiştir. Sürgün gelişimine etkide ise tüm izolatlar kontrole göre %6,6 ile % 108,6 oranlarında artış sağlamıştır. Kök gelişimine etkide en etkili izolat %70,6 ile *Bacillus pumilis* 10ASO2 izolatı olurken, sürgün gelişiminde ise en etkili izolat %108,6 ile *Acinetobacter lwoffii* 4ZLF10 izolatı olarak saptanmıştır. Kök ve sürgün gelişiminde kontrole göre % 35 ve üzeri etkili olan aday izolatlar seçilerek diğer çalışmalarda kullanılmıştır.

- Kök ve sürgün gelişimi etkilerine göre seçilen 29 aday bakterinin fosfatı çözebilme kapasiteleri incelenmiştir. Deneme sonucunda 17 izolat fosfatın çözünmesine bağlı olarak herhangi bir zon oluşturmaz iken 12 izolat ise 1,8 ile 5,0 arasında değişen çözünme indeks değerlerinde şeffaf zonlar oluşturmuştur. Deneme sonucunda en etkili izolatın *Pseudomonas kilonensis* 6ALD13 izolatı olduğu belirlenmiştir.

- Siderofor üretimi testinde ise 31 farklı izolat arasında 1 izolat dışında tüm aday bakteriler 2,08 ile 4,78 arasında değişen indeks değerlerinde farklı çaplarda zonlar oluşturmuştur. En yüksek siderofor üretimi ise *Bacillus mojavensis* 5DRC4 izolatında olduğu saptanmıştır.

Tarımda kimyasal gübrelerin yoğun olarak kullanımı beraberinde birçok sorunu da getirmiştir. Çoraklaşma, yeraltı ve yer üstü sularının kirlenmesi, insan sağlığına olumsuz etkileri dolayısıyla kimyasal gübrelere alternatif olarak biyolojik gübrelerin kullanımı önemini gittikçe arttırmaktadır (Sülü ve ark., 2016). Biyolojik gübre denildiği zaman ilk sırayı ise PGPR olarak adlandırılan ve bitki gelişimini teşvik eden bakteriler almaktadır. Söz konusu bakteriler bitkide hormonlarda artışa, topraktan yararlı minerallerin alımında rol oynamak suretiyle bahçe bitkileri, tarla bitkileri ve sebzelerde bitki gelişimi ve verim artışı üzerine olumlu etkilerde bulunduğu üzerine ülkemizde yapılmış pek çok çalışmalar bulunmaktadır (Turan ve ark., 2014; Sahin ve ark., 2015)

Yapılan bu çalışma ile buğday köklerinden izole edilen bazı bakterilerin *in vitro* koşullarda buğday sürgün ve kök gelişimine etkileri gibi özellikleri yanında bakteri izolatlarının siderofor üretimi ve fosfat çözünürlüğünü arttırma gibi özellikleri belirlenmiştir ve çalışma sonucunda oldukça ümitvar sonuçlar elde edilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler ışığında seçilecek olan bakteri izolatları ile *in vivo* saksı denemeleri, tarla denemeleri ve biyoförmülasyon çalışmaları ile pratikte bu bakterilerin biyogübre olarak kullanılabilirliği belirlenmiş olacaktır.

Kaynaklar

Akgül, D.S., Mirik, M., 2008. Biocontrol of *Phytophthora capsici* on pepper plants by *Bacillus megatarium* strains, Journal of Plant Pathology, vol. 90, pp. 29-34.

Aksoy, U., Tüzelt, Y., Altındişli, A., Can, H.Z., Onoğur, E., Anaç, D., Okur, B., Çiçekli, M., Şayan, Y., Kırkpınar, F., Bektaş, K.Z., Çelik, S., Er, C., Özkan, C., Özenç, D.B., 2005. Türkiye Ziraat Mühendisleri Odası VI.

Teknik Kongresi. 3-7 Ocak 2005. s.291-315.

Anonymous, 2013. <http://faostat.fao.org/>

Dastager, S.G., Kumaran D.C. and Pandey A., 2010. Characterization of plant growth-promoting rhizobacterium *Exiguobacterium* NII-0906 for its growth promotion of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Biologia Section Cellular and Molecular Biology* 65/2: 197, 203.

Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Subila, K. P., Bini, Y. K. and Aravind, R., 2014. Native multi-trait rhizobacteria promote growth and suppress foot rot in black pepper. *Journal of Spices and Aromatic Crops* Vol. 23 (2) : 156–163 .

Gholami A., Shahsavani S. and Nezarat S., 2009. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize, *World Academy of Science, Engineering and Technology* 49.

Harlan, J.R., Zohary, D., 1966. Distribution of wild wheats and barley, *Science*, 4, 1074-1079.

Hurek T, Reinhold-Hurek B., 2003. *Azoarcus* spp. strain BH72 as a model for nitrogen fixing grass endophytes. *J Biotechnol* 106:169.

İrget, M.E., Anaç, D., Okur, B., Delibacak, S., Ongun, A.R. ve Özer, K., 2005. Azotlu Gübre Uygulama Zamanı, Dozu Ve Toprak Özelliklerinin Profil Boyunca NO₃-N ve NH₄-N Dağılımına Etkisi. Ege Üniversitesi 2000-ZRF-008 Nolu Araştırma Projesi.

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Gopi, R., Somasundaram R. and Panneerselvam, R., 2007. *Pseudomonas fluorescens* enhances biomass yield and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* under water deficit stress. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 60: 7-11.

Klement Z, Rudolph K, Sands D.C., 1990. *Methods in Phytobacteriology* Akademiai, Kiado, Budapest, p. 568.

Kloepper J.W. and Schroth, M.N., 1978. Plant growth-promoting rhizobacteria on radishes. In *proceedings of the 4ht.*

- International Conference on Plant pathogenic Bacteria. Pp.879-882.
- Kumar, A., Prakash, A. and Johri B.N., 2011. Bacillus as PGPR. Bacteria in Agrobiolgy: Crop Ecosystems, DOI 10.1007/978-3-642-18357-7_2
- Kumar, V. and Gera, R., 2014. Isolation of a multi-trait plant growth promoting *Brevundimonas* sp. and its effect on the growth of *Bt*-cotton. Biotech 4:97–101.
- Mirik, M., Aysan, Y., Özden, Ç., 2008. Biological control of bacterial spot disease of pepper with Bacillus strains. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, vol, 32, pp. 381-390.
- Nautiyal, C.S., 1999. An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. FEMS Microbiology Letters 170.
- Rana, A., Saharan, B., Joshi, M., Prasanna, R., Kumar, K., Nain, L., 2011. Identification of multi-trait PGPR isolates and evaluating their potential as inoculants for wheat. Ann Microbiol 61:893–900.
- Rawat, S., and Mushtaq, A., 2015. Plant growth promoting rhizobacteria, a formula for sustainable agriculture: A review. Asian Journal of Plant Science and Research, 5(4):43-46.
- Sahin, U., Ekinci, M., Yildirim, E., Kiziloglu, M.F., Turan, M., Kotan, R., and Ors, S., 2015. Ameliorative effects of plant growth promoting bacteria on water-yield relationships, growth and nutrient uptake of lettuce plants under different irrigation levels. Hort Science, 50: 1379–1386.
- Shaukat, K., Affrasayab S., and Hasnain, S., 2006a. Growth responses of *Helianthus annuus* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. J.Agric.Res.,vol.1(6), pp.573-581.
- Shaukat, K., Affrasayab, S., and Hasnain, S., 2006b. Growth responses of *Triticum aestivum* to plant growth promoting rhizobacteria used as a biofertilizer. Res. J. Microbiol., vol.1(4), pp.330-338.
- Shrivastava, U. P. and Kumar, A., 2013. Characterization and Optimization Of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase (ACCD) Activity In Different Rhizospheric PGPR Along With *Microbacterium* sp. Strain ECI-12A. Int J Appl Sci Biotechnol, Vol. 1(1): 11-15.
- Slenker, A. K., Hess, B. D., Jungkind, D. L. and DeSimonea, J. A., 2012. Fatal Case of *Weeksella virosa* Sepsis. American Society for Microbiology. All Rights Reserved. doi:10.1128/JCM.01761-12.
- Sülü, S.M., Bozkurt, İ.A., Soylu, S., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 21: 103-111.
- Soylu, S., Soylu, E.M., Kurt, S.K., Ekici, O. 2005. Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soil-borne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 8, 43-48.
- Soylu, S. 2011. Marul (*Lactuca sativa* L.) bitkisinde beyaz çürüklük hastalığına (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) karşı kök bakterilerinin kullanım olanakları. Alatarım, 10: 85-93.
- Turan, M., Ekinci, M., Yildirim, E., Güneş, A., Karagöz, K., Kotan, R. and Dursun, A., 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria improved growth, nutrient, and hormone content of cabbage (*Brassica oleracea*) seedlings. Turk. J. Agric. For., 38: 327-333.
- Vazquez P. Holguin G. Puente M.E. Lopez-Cortes A. Bashan Y., 2000. Phosphate-solubilizing microorganisms associated with the rhizosphere of mangroves in a semiarid coastal lagoon. Biol Fertil Soils 30:460–468
- Vessey K.J., 2003. Plant Growth Promotion Rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil. 255:571-586.
- Vrbničanin, S., Božić, D., Sarić, M., Pavlović, D. & Raičević, V. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on *Ambrosia artemisiifolia* L. seed germination. Pesticides & Phytomedicine, 26(2), 141-146. doi:10.2298/PIF1102141V
- Zamin, R., Farokh, Sachdev, D., Kazemi-Pour, N., Engineer, A., Pardesi, K. R Zinjarde, S.,

Dhakephalkar, P. K. and Chopade B. A., 2011. Characterization of Plant-Growth-Promoting Traits of Acinetobacter Species Isolated from Rhizosphere of Pennisetum glaucum. J. Microbiol. Biotechnol. 21(6), 556–566.

Zdor, R.E., Alexander, C.M. and Kremer, R.J., 2005. Weed Supression by Deleterious Rhizobacteria is Affected by Formulation and Soil Properties. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 36: 1289-1299.