

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ MARKÖRLER BARINDIRAN
BAKTERİYEL İZOLATLARIN BAZI ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA
DAYANIKLILIĞININ *IN VITRO* KOŞULLARDA İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Şevin DEMİR
Danışman: Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN

VAN – 2024

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ MARKÖRLER BARINDIRAN
BAKTERİYEL İZOLATLARIN BAZI ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA
DAYANIKLILIĞININ *IN VITRO* KOŞULLARDA İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Savunma Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN (Başkan)

Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN (Danışman)

Doç. Dr. Çiğdem YÜCEL (Üye)

Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ (Üye)

VAN – 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN danışmanlığında, Şevin DEMİR tarafından sunulan “Bitki Büyümesini Teşvik Edici Markörler Barındıran Bakteriyel İzolatların Bazı Abiyotik Stres Koşullarına Dayanıklılığının *In Vitro* Koşullarda İncelenmesi” başlıklı bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 16.08.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN

İmza:

Üye: Doç. Dr. Çiğdem YÜCEL

İmza:

Üye: Doç. Dr. Ahmet AKKÖPRÜ

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun /.... /..... tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

İmza

Şevin DEMİR



ÖZET

BİTKİ BÜYÜMESİNİ TEŞVİK EDİCİ MARKÖRLER BARINDIRAN BAKTERİYEL İZOLATLARIN BAZI ABİYOTİK STRES KOŞULLARINA DAYANIKLILIĞININ *IN VITRO* KOŞULLARDA İNCELENMESİ

DEMİR, Şevin

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN

Ağustos 2024, 45 sayfa

Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR), bitki büyümesinin artırılması ve bitki hastalıklarının yönetimi için biyokontrol ajanları olarak kullanılan mikroorganizma grubu olarak tanımlanmıştır. Endofitler ise, bitkilerin doku aralarında/içlerinde yaşayan ancak konukçusunda gözle görülen bir hastalık belirtisine neden olmayan bakteriyel veya fungal mikroorganizmaları kapsar. Bu çalışmada daha önce laboratuvarımızda yürütülen farklı çalışmalarda fosfat çözünürlüğü, indol asetik asit üretimi, siderofor üretimi, azot fiksasyonu gibi PGP (bitki gelişimini destekleyici) markörler açısından kayda değer sonuçlar veren 5 adet izolatın sıcaklık, pH, tuz, kuraklık ve cıva, lityum ve kobalt ağır metallerine karşı toleransları *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatları 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C’de, V14G3 izolatı ise 45°C sıcaklıkta dahi optimum büyüme göstererek en başarılı izolatlar olmuştur. V27K3 izolatı kontrole göre %5 (w/v) tuz konsantrasyonunda optimum derecede büyüme gösterdiği belirlenmiştir. *In vitro* kuraklık denemelerinde V14G3, G105K2 ve G106Y1 izolatlarının kuraklık stresine karşı en başarılı izolatlar olduğu görülmüştür. Her üç izolatın kontrol gruplarına göre %25 (w/v) PEG konsantrasyonunda dahi kayda değer derecede büyüme gösterdiği ortaya konmuştur. Ağır metal stres denemelerinde, G96Y1 ve V14G3 izolatları 0.05 mM Cıva (Hg) içeren NB sıvı besi ortamında büyüme göstererek Cıvaya karşı en dayanıklı izolatlar olarak değerlendirilmişlerdir. İzolatların Lityum (Li) metalinin farklı konsantrasyonlarındaki büyüme profilleri incelendiğinde 15 mM Lityum içeren NB sıvı besi ortamlarında dahil güçlü bir büyüme ortaya koymuşlardır. Kontrol ile kıyaslama yapıldığında izolatların tümünün Kobalt (Co) metaline karşı hassas olduğu ve test edilen konsantrasyonlarda büyüme gösterememişlerdir. Ayrıca yapılan 16s rRNA dizilemesi sonucunda G96Y1, V14G3, V27K3, G106K1-SV izolatları sırası ile %99.80, %100, %99.58 ve %99.55 benzerlik oranları ile *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus zhangzhouensis* ve *Pseudomonas kilonensis* suşları ile eşleşmişlerdir.

Anahtar kelimeler: Abiyotik stres, Endofit bakteriler, Tarımsal biyoteknoloji

ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF THE RESISTANCE OF BACTERIAL ISOLATES HARBORING PLANT GROWTH PROMOTING MARKERS TO SOME ABIOTIC STRESS CONDITIONS

DEMİR, Şevin

M.Sc. Thesis, Department of Agricultural Biotechnology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Bilgin TAŞKIN

August 2024, 45 pages

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) are defined as a group of microorganisms used as biocontrol agents for plant growth promotion and plant disease management. Endophytes include bacterial or fungal microorganisms that live between/inside plant tissues but do not cause visible disease symptoms in their host. In this study, the tolerance of 5 isolates, which gave remarkable results in terms of PGP (plant growth promoting) markers such as phosphate solubility, indole acetic acid production, siderophore production, nitrogen fixation in different studies carried out in our laboratory, to temperature, pH, salt, drought and mercury, lithium and cobalt heavy metals were investigated under *in vitro* conditions. In the study, endophyte bacterial isolates with code numbers G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 and V27K3 showed optimum growth at 25°C, 30°C, 35°C, 40°C and 45°C, and V14G3 isolate was the most successful isolates even at 45°C. V27K3 isolate showed optimum growth up to 5% (w/v) salt concentration (including 5%) compared to the control tube. *In vivo* drought experiments showed that V14G3, G105K2 and G106Y1 isolates were the most successful isolates against drought stress. It was revealed that all three isolates showed significant growth up to 25% (w/v) PEG concentration (up to and including 25%) compared to the control tube. In heavy metal stress experiments, G96Y1 and V14G3 isolates showed growth on NB liquid medium containing 0.05 mM mercury (Hg) and were evaluated as the most resistant isolates against Mercury. When the growth profiles of the isolates at different concentrations of Lithium (Li) metal were examined, they showed a strong growth including NB liquid media containing 15 mM Lithium. When compared with the control tube, it was observed that all isolates were sensitive to Cobalt (Co) metal. They failed to grow at the concentrations tested. In addition, as a result of 16s rRNA sequencing, G96Y1, V14G3, V27K3, G106K1-SV isolates were matched with *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus zhangzhouensis* and *Pseudomonas kilonensis* strains with 99.80%, 100%, 99.58% and 99.55% similarity rates, respectively.

Keywords: Abiotic stress, Agricultural biotechnology, Endophyte bacteria



TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tez çalışmam boyunca bilgi ve tecrübesiyle bana sabırla yol gösteren, destek olan danışmanım Sayın Doç. Dr. Bilgin TAŞKIN’a teşekkür ederim. Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü öğretim üyesi ve araştırma görevlisi hocalarıma teşekkür ederim. Yüksek Lisans sürecimde ve hayatımın her alanında maddi ve manevi katkılarıyla, sabır ve anlayışlarıyla bana büyük katkısı olan annem Hamide DEMİR ve babam Şeref DEMİR’e çok teşekkür ederim.

2024

Şevin DEMİR



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	3
2.1 Bitkilerde Biyotik ve Abiyotik Stres Faktörleri	3
2.1.1 Sıcaklık Stresi.....	4
2.1.2 Kuraklık Stresi.....	5
2.1.3 Tuz Stresi.....	5
2.1.4 Ağır Metal Stresi.....	6
2.2 Endofit Mikroorganizmalar ve Tarımsal Uygulamalardaki Önemi	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1 Bakteri İzolatları ve Geliştirilmesi	11
3.2 İzolatların Sıcaklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	12
3.3 İzolatların Tuz Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	12
3.4 İzolatların Kuraklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	12
3.5 İzolatların Ağır Metal Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	13
3.6 Bakterilerin Kısmi 16S rRNA Dizi Analizi ile Moleküler Tanımlanması	14
3.6.1 DNA İzolasyonu	14
3.6.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR).....	14
3.6.3 PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi	15
3.6.4 PZR Ürünlerinin Sekans Analizi	15
3.7 İstatistiksel Analiz	15
4. BULGULAR.....	17
4.1 İzolatların Sıcaklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	17
4.2 İzolatların Tuz Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	17

4.3 İzolatların Kuraklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	20
4.4 İzolatların Ağır Metal Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi	20
4.5 Bakterilerin Kısmi 16S rRNA Dizi Analizi ile Moleküler Tanımlanması	23
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	27
KAYNAKLAR.....	37
ÖZ GEÇMİŞ.....	45



ÇİZELGELER LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 3.1 Kullanılan izolat, konukçu ve izole edilen organ.....	11
Çizelge 3.2 İzolatların geliştirilmesi için kullanılan NA besi ortamı bileşimi.....	11
Çizelge 3.3 Metal stok solüsyonları.....	13
Çizelge 3.4 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılması PZR koşulları.....	15
Çizelge 4.1 Dizi analiz sonuçlarının EzBioCloud very tabanı kullanılarak yapılan karşılaştırmalı analiz sonuçları ve GenBank erişim numaraları.....	23



ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Farklı abiyotik stres türleri ve bitkiler üzerindeki etkileri.....	7
Şekil 2.2 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'un bitkiler üzerindeki etkisi.....	8
Şekil 3.1 Soldan sağa doğru sırasıyla Kobalt (CoCl_3), Lityum (LiCl) ve Civa (HgCl_2) stok solüsyonları	13
Şekil 4.1 İzolatların sıcaklık stresi toleransı açısından incelenmesi	18
Şekil 4.2 İzolatların tuz stresi toleransı açısından incelenmesi	19
Şekil 4.3 İzolatların kuraklık stresi toleransı açısından incelenmesi	21
Şekil 4.4 İzolatların Civa (Hg) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi.....	22
Şekil 4.5 İzolatların Lityum (Li) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi.....	24
Şekil 4.6 İzolatların Kobalt (Co) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi incelenmesi.....	25



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamalarıyla aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

CoCl₂

Kobalt Klorür

HgCl₂

Cıva Klorür

LiCl

Lityum Klorür

MgSO₄

Magnezyum Sülfat

NaCl

Sodyum Klorür

PEG

Polietilen Glikol

Kısaltmalar

Açıklama

ABI

Applied Biosystem

DNA

Deoksiribo Nükleik Asit

NA

Nutrigent Agar

PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

ROS

Reaktif Oksijen Türleri

PGP

Bitki Gelişimini Teşvik Eden

EB

Endofit Bakteri

ROS

Reaktif Oksijen Türleri



1. GİRİŞ

Bitkiler, tarımsal ürün verimliliğini azaltan ve sınırlayan çeşitli çevresel streslere maruz kalmaktadır. Bitkileri etkileyen çevresel stresler iki türdür: biyotik ve abiyotik stresler. Abiyotik stresler sıcaklık, ultraviyole radyasyon, tuzluluk, seller, kuraklık, ağır metaller vb. içerir ve küresel olarak önemli mahsul bitkilerinin kaybına neden olurken, biyotik stresler böcekler, herbivorlar, nematodlar, mantarlar, bakteriler veya yabancı otların neden olduğu hasarı ifade eder (Bolaji vd., 2022).

Abiyotik streslere karşı bitki tepkileri dinamik ve karmaşıktır; hem geri dönüşümlü) hem de geri dönüşümsüz (Cramer, 2010). Bitkilerin strese verdiği tepkiler, stresten etkilenen doku veya organa bağlıdır. Örneğin, strese karşı transkripsiyonel tepkiler köklerde doku veya hücreye özgüdür ve ilgili strese bağlı olarak oldukça farklıdır. Buna ek olarak, stresin seviyesi ve süresi (akut ve kronik) tepkinin karmaşıklığı üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Dinney vd., 2008). Abiyotik streslere karşı bitkilerin sergilediği moleküler tepkiler, birçok moleküler yolak ile etkileşimleri içerir [29]. Sistem biyolojisi ve omik yaklaşımlar, bitkilerin abiyotik strese verdiği tepkilerdeki bazı temel düzenleyici yolları aydınlatmak için kullanılmaktadır (Cramer vd., 2011).

Gübre, kimyasal kullanımı ve genetik mühendisliği yaklaşımlar ile çeşitli abiyotik streslere dayanıklı bitkilerin üretilmesi ile tarımda abiyotik streslerin sebep olduğu olumsuzluklar ile mücadele edilmektedir. Bunlara ek olarak mikroorganizmalar, bitki büyümesini etkileyen abiyotik stres koşullarının hafifletilmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Örneğin Bitki Büyümesini Destekleyen Rizobakteriler (PGPR'ler) ve Arbusküler Mikorizal Mantarlar (AMF) gibi faydalı toprak mikroorganizmaların tarımda aşılama yolu ile kullanımının birçok bitki türünün kök bölgesinde kolonize olmalarını, besin alımını, su mevcudiyetini ve bitkilerde stres toleransını geliştirerek bitki büyümesini ve gelişimini arttırdıkları bilinmektedir (Gul vd., 2023). Pek çok çalışma, mikroorganizmaların abiyotik stresi azaltmasının bitki büyümesi, besin alımı, fotosentez ve antioksidan enzimler gibi birincil metabolizmaların aktivasyonu yoluyla olduğunu gösterse de ikincil metabolitlerin katılımını gösteren kanıtlar da vardır. Mikroorganizmalarla aşılانmış stres altındaki bitkilerde flavonoidler, fitoaleksinler, fenilpropanoidler ve karotenoidler gibi bazı ikincil metabolitler belgelenmiştir. Bu ikincil metabolitler, Reaktif Oksijen Metabolitleri'ni (ROS) temizleyen antioksidanlar olarak

hareket ederek bitkilerin abiyotik stresi tolere etmesine yardımcı olur. Hem mantarlar hem de bakteriler, stres altındaki bitkilerde ikincil metabolitlerin sentezlenmesini indüklenmesinde yaygın olarak rol oynarlar (Koza vd., 2022).

Endofitik mikroorganizmalar, bitki büyümesini teşvik eden, abiyotik veya biyotik strese yanıt olarak gen ekspresyonunu modüle edebilen birincil ve ikincil metabolitler sentezleyerek bitki fizyolojisi üzerinde olumlu etki gösterirler. Konukçuna önemli faydalar sağlayan bu metabolitler bitkilerin abiyotik ve biyotik streslere karşı daha toleranslı hale gelmelerini sağlarlar (Sharma vd., 2020). Biyotik ve abiyotik stres (kuraklık ve tuz stresi gibi) dahil olmak üzere bitkiler üzerindeki çeşitli streslerin iyileştirilmesinde endofitlerin rolüne yönelik artan bir ilgi vardır, çünkü endofitler fitohormonlar, nitrojen sabitleme, antagonistik maddeler ve enzimler üretme kabiliyetleri ile bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere yanıt vermesinde önemli bir rol oynarlar (Zhang vd., 2019).

Bu çalışmada daha önceki laboratuvarımızda yürütülen farklı çalışmalarda fosfat çözünürlüğü, indol asetik asit üretimi, siderofor üretimi, azot fiksasyonu gibi PGPR (bitki gelişimini destekleyici) markörler açısından kayda değer sonuçlar veren 5 adet izolat belirlenerek bu izolatların sıcaklık, pH, tuz, kuraklık ve bazı ağır metallere karşı toleransları *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Ayrıca yapılan 16s rRNA dizilemesi sonucunda G96Y1, V14G3, V27K3, G106K1-SV izolatları sırası ile %99.80, %100, %99.58 ve %99.55 benzerlik oranları ile *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus zhangzhouensis* ve *Pseudomonas kilonensis* suşları ile eşleşmişlerdir. G105K2 izolatının 16s rRNA dizileme sonucu her ne kadar %86,17 benzerlik oranı ile *Pantoea cinci* içerisinde yer alsada GenBank “Accession” numarası alacak kadar temiz bir sonuç verememiştir. Dolayısı ile bu izolatın moleküler tanımlaması tekrar edilecektir.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

2.1 Bitkilerde Biyotik ve Abiyotik Stres Faktörleri

Bitkiler, büyümelerini ve üretkenliklerini etkileyen çeşitli çevresel streslerle karşı karşıya kalırlar. Bu stresler iki ana kategoriye ayrılır: abiyotik ve biyotik stresler. Bitkiler mantarlar, virüsler, bakteriler, nematodlar ve böcekler gibi çeşitli canlı organizmaların neden olduğu çeşitli biyotik strese maruz kalmaktadır (Fahad vd., 2017). Bu biyotik stres ajanları çeşitli hastalıklara, enfeksiyonlara ve mahsul bitkilerine zarar vererek tarımsal verimi düşürür. Bitkiler stres etkileriyle başa çıkmak için fizyolojilerini, metabolik mekanizmalarını, gen ifadelerini ve gelişimsel faaliyetlerini değiştirirler. Bu nedenle, bitkiler stresi tolere etmek için benzersiz ve sofistike mekanizmalara sahiptir. Bununla birlikte, araştırma metodolojileri aracılığıyla biyotik stres faktörlerinin üstesinden gelmek için farklı stratejiler oluşturulmuştur. Bununla birlikte, tolerans derecesi bitkiden bitkiye, düşükten yükseğe değişir (Smith vd., 2001). Genetiği değiştirilmiş bitkiler, biyotik stres faktörlerine karşı dayanıklı bitki çeşitleri oluşturmaktadır (Rollins vd., 2013). Bitkiler stres etkileriyle başa çıkmak için fizyolojilerini, metabolik mekanizmalarını, gen ifadelerini ve gelişimsel faaliyetlerini değiştirirler.

Abiyotik faktörler; sıcaklık, nem, ışık, su mevcudiyeti, mineral besinler ve CO₂ gibi bitki büyümesini belirleyen parametreler ve kaynakların yanı sıra rüzgâr, iyonlaştırıcı radyasyon veya ağır metaller gibi kirleticileri içerir. Optimum büyüme için, bitki her bir abiyotik çevresel faktörün belirli bir miktarına ihtiyaç duyar. Bu tür optimal dış koşullardan herhangi bir sapma, yani kimyasal veya fiziksel ortamdaki bir fazlalık veya eksiklik, abiyotik stres olarak kabul edilir ve bitki büyümesini, gelişimini ve/veya üretkenliğini olumsuz yönde etkiler (Bray vd., 2000). Abiyotik stres faktörleri arasında örneğin aşırı sıcaklıklar (sıcak, soğuk ve donma), çok yüksek veya çok düşük ısınım, su basması, kuraklık, topraktaki mineral besin maddelerinin yetersizliği ve aşırı toprak tuzluluğu yer almaktadır (Koyro vd., 2012).

Endofitik bakteriler ile konukçuların ilişkileri çok çeşitli ve karmaşıktır. Örneğin, *Rhizobium* bakterileri, konukçu bitki ile simbiyotik ilişki içinde olan ve kök nodüllerine kolonize olan bakteriler olarak bilinmektedir. Bitki ve endofitik bakteri arasındaki

ilişkide, bitkiler bakterilere besin kaynağı olabilirken, bakteri de bitkiye azot sağlayabilmektedir (Schultze ve Kondorosi, 2002).

Kök bakterileri ve endofit bakterilerin gelişimi biyotik ve abiyotik etkenler tarafından etkilense bile, endofit bakteriler bitki içerisinde bulunmasından dolayı bitki tarafından köklerdeki bakterilere oranla biyotik ve abiyotik streslere karşı daha fazla korunmaktadır.

Endofit bakteriler, iki şekilde bitki büyüme ve gelişmesini düzenlemektedirler: Doğrudan etki, besinlerin çevreden emilimi kolaylaştırır; dolaylı etkide de konukçunun direnci artarak patojenlerin zararlı etkileri önlenir. Doğrudan etki mekanizmalarından olan azot fiksasyonu, fosforun biyolojik olarak alınabilir hale gelmesi, siderofor yardımıyla bitkiler tarafından demirin alınması ve bitkisel hormonların üretilmesi gibi mekanizmalarla, bitki büyümesi ve gelişimi endofit bakteriler tarafından düzenlenebilmektedir (Tsavkelova vd., 2007; Jha vd., 2012).

2.1.1 Sıcaklık Stresi

Isı stresi, bitki büyümesi ve gelişmesinde geri dönüşü olmayan hasara neden olmaya yetecek optimum sıcaklığın üzerindeki sıcaklıklara maruz kalma olarak tanımlanır. Daha yüksek sıcaklıklar bitkinin vejetatif aşamalarını, kaynak tahsisini ve hepsinden önemlisi üreme süreçlerini doğrudan etkiler ve bu da verimde önemli bir düşüşe yol açabilir. Aşırı yüksek sıcaklıklar hızlı hücresel hasara ve hücre ölümüne neden olur (Kotak vd., 2007). Bir bitkinin büyümesinin bitkisel aşamasındaki ısı stresi, daha yüksek bir fotosentez oranına ve ardından biyokütle azalmasına yol açar. Daha yüksek sıcaklıklar gelişimin üreme aşamalarını önemli ölçüde etkiler. *Brassica* cinsine ait türler için, ekimden çiçeklenme sonuna kadar geçen süre boyunca 29.5°C'yi aşan sıcaklıklar, çiçekleri, bakla sayısını, tohum ağırlığını ve dolayısıyla toplam verimi azaltığı belirtilmiştir (Liu vd., 2016). Ai Qing vd. (2018) baharlık buğday gametogenezi sırasında ısıya maruz kalmanın verim kaybı için önemli bir belirleyici faktör olduğunu belirtmiştir. Bheemanahalli vd. (2019) baharlık buğday genotiplerinde ısı stresi uygulamasından sonra polen çimlenmesinde %2-93'lük bir azalma gözlemlemişlerdir. Mısır veriminin genellikle, ısı ve kuraklık stresi sırasında nişasta sentezinin modülasyonundan

kaynaklanan çözünebilir şekerin düşük kullanımının bir sonucu olabilen tane kaybı nedeniyle azaldığı belirtilmiştir (Bheemanahalli vd., 2019).

2.1.2 Kuraklık Stresi

Yüksek sıcaklıklar kuraklık stresiyle güçlü bir şekilde ilişkilidir. Kuraklık, önemli bir hidrolojik dengesizliğe yol açacak kadar uzun süre yağmurun yağmadığı ya da yetersiz olduğu bir durumdur. Su kıtlığının doğrudan bir sonucu olarak bitkiler kuraklık stresinden etkilenir. Kuraklık stresi, suyun bulunabilirliğinin azalması ve suya olan talebin artmasıyla daha da önemli hale gelmektedir. Tarım şu anda küresel temiz su talebinin %70'ini oluşturmaktadır ve bu oranın önümüzdeki yıllarda hızla artması beklenmektedir (Boretti ve Rosa, 2019).

Kuraklıkla ilgili temel sorun, kuraklık stres koşullarını şiddetlendiren ve yer üstü büyümede kısıtlamalara yol açan birçok iç içe geçmiş pozitif geri besleme döngüsünün başlatılmasıdır. Bu sınırlamalardan biri, su kaybına karşı koruma sağlayan bir mekanizma olarak stomaların kapanmasıdır ve bu da CO₂ konsantrasyonunu sınırlar. CO₂'nin sınırlandırılması, fotosentetik sürecin verimliliğini engeller ve yeterli düzeyde terminal enerji alıcısı olmadan, elektron taşıma zincirinin bir yan ürünü olarak Reaktif Oksijen Ürünleri (ROS) oluşumuna neden olur. ROS ise fotosentetik biyokimyasal yolları bozar ve proteinler ve lipitler dahil diğer önemli moleküllerin oksidasyonuna neden olur (Wang vd., 2018). Bitkiler, kaynaklarını optimum büyümeye harcamak yerine, ozmoprotektif bileşikler sentezlemeye yönlendirir. Genel olarak kuraklık stresi çeşitli fizyolojik süreçleri etkiler ve sonuçta büyüme kısıtlamalarına ve düşük üretime yol açar (Kopecká vd., 2023).

2.1.3 Tuz Stresi

Mahsul bitkilerinin çoğu tuzluluk stresine duyarlı glikofitlerdir. Sulanan alanların yaklaşık yarısının tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir. Yüksek derecede tuzlu toprak, doğal süreçlerden (hava koşulları, deniz tuzu içerikli yağmur) veya insan faaliyetlerinden (arazi temizleme, sulama) kaynaklanır (Gong vd., 2020). Tuz stresi bitki büyümesini, gelişmesini ve üretimini olumsuz etkiler. Artan tuz seviyelerinin iki farklı

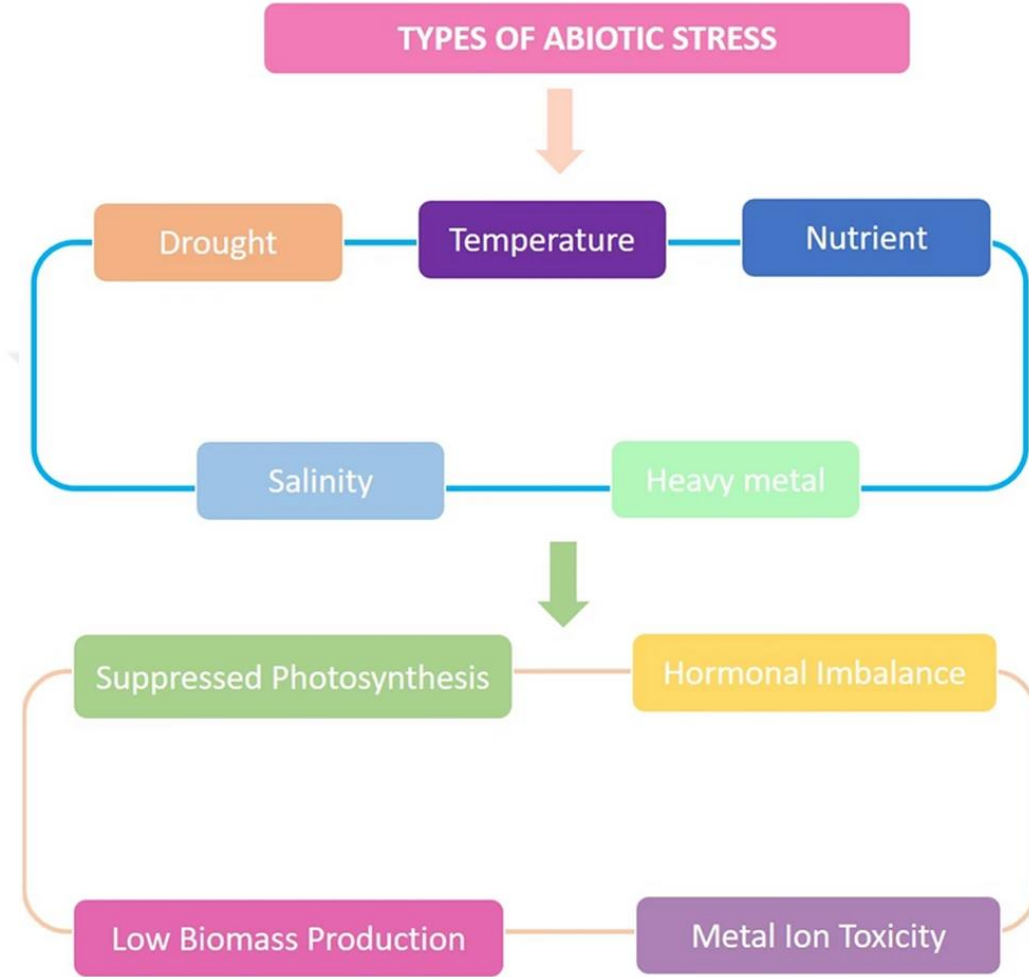
biyofiziksel sonucu vardır: ozmotik stresin uyarılması ve iyonların sitotoksik seviyelere birikmesidir. Aşırı tuzun en önemli sonuçlarından biri hücre içindeki iyon dengesizliğidir (Guo vd., 2020).

2.1.4 Ağır Metal Stresi

Demir (Fe), manganez (Mn), bakır (Cu), nikel (Ni), kobalt (Co), kadmiyum (Cd), çinko (Zn), cıva (Hg) ve arsenik (As) gibi ağır metaller endüstriyel atıklar ve kanalizasyon atıkları nedeniyle toprakta birikirler. Bu metallere bazıları bitki süreçleri için gerekli mikro besinler olsa da fazlalıkları bitki büyümesine, metabolizmasına, fizyolojisine ve yaşlanmasına zarar verebilir. Bitkiler ağır metal stresine mücadele etmek için metal alımını azaltma, iyonları bölmelerde tutma ve metalleri detoksifiye etme gibi çeşitli mekanizmalara sahiptir. Metal toksisitesi sırasında oksidatif stres meydana gelir ve stresle ilişkili proteinlerin, hormonların ve antioksidanların üretimine yol açar (Ghori vd., 2019). Ağır metaller çekirdeğe başarılı bir şekilde girer ve bağlanırsa, DNA ve proteinlerin molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlanmasını, DNA baz modifikasyonlarını, yeniden düzenlemeleri, DNA ipliği kırılmasını ve depurinasyonu içeren promotajenik hasara neden olabilirler. Bu zararlı etkiler, metal toksisitesi tarafından üretilen oksidatif türler nedeniyle meydana gelir (Ghori vd., 2019).

Taşıma proteinleri, ağır metal homeostazı söz konusu olduğunda önemli bir rol oynamaktadır; biyokimyasal ve moleküler tekniklerin kullanılması bize taşıma proteinlerini hem mekanik özellikleri hem de fizyolojik rolleri açısından anlama fırsatı sunmaktadır. Ağır metal toksisitesine karşı tolerans, ya kökler tarafından alımla ilgili mekanizmaları saf dışı bırakarak ya da ilgili alımlarını takiben metalin dışarı atılması, kompartmanlara ayrılması ve detoksifikasyonu ile sağlanabilir (Williams vd., 2000). Metal iyonlarını detoksifiye etmek veya tecrit etmek amacıyla bitkiler, metalleri bölmelere ayırma ve sıklıkla onları kofullara taşıma eğilimindedir. Tonoplastta bulunan bu tür taşımada çok sayıda spesifik taşıyıcı yer alır. ABC taşıyıcı ailesi, metal iyonlarının şelasyonu ve sekestre edilmesinde rol oynayan ve bunları vakuole taşıyan MRP ve PDR olmak üzere iki alt aileden oluşur (Ortiz vd., 1995).

Ağır metal toksisitesi, yalnızca bitki fizyolojisini etkilemekle kalmayıp aynı zamanda büyük verim kayıplarına yol açan zararlı etkilere neden olan ciddi bir sorundur; aynı zamanda besin zincirinde de akar ve bu bitkilerin tüketicilerini etkiler.

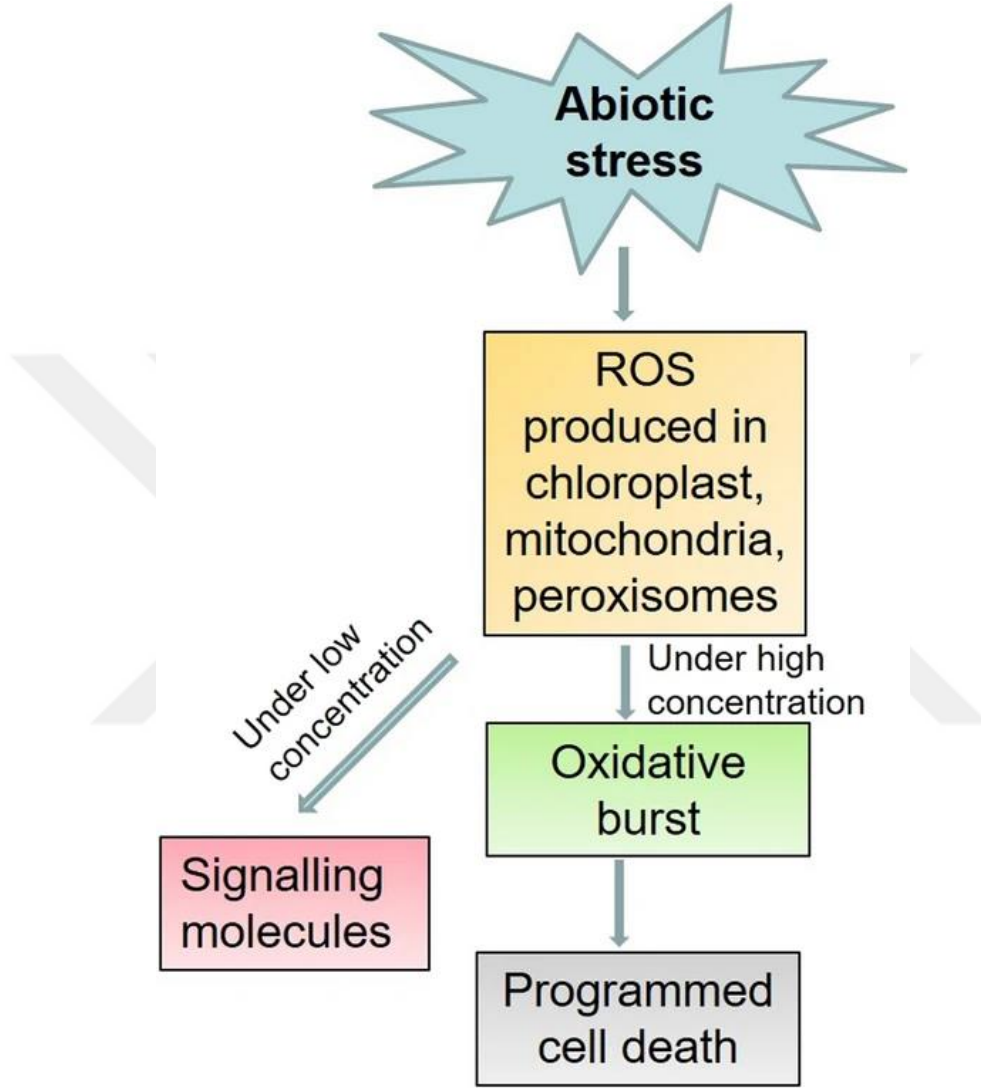


Şekil 2.1 Farklı abiyotik stres türleri ve bitkiler üzerindeki etkileri (Tyaga vd., 2022)

2.2 Endofit Mikroorganizmalar ve Tarımsal Uygulamalardaki Önemi

Bir endofit, bir bitkinin yaşam döngüsünün en azından bir kısmı boyunca bitki dokuları içerisinde ya da aralarında yaşamlarını sürdüren, genellikle bir bakteri veya mantar olan bir endosembiyoz mikroorganizmadır. Bitki-endofit ilişkisi mutualizmden patojeniteye kadar uzanmaktadır. Bu mikroorganizmalar, konukçunun çeşitli biyotik ve abiyotik stresli koşullarla mücadele etmesine yardımcı olurlar. Endofitik mikroorganizmalar, fosfor, potasyum ve çinko gibi makro besin maddelerini çözerek,

atmosferik azotu sabitleyerek, fitohormon, siderofor, hidrojen siyanür, amonyak sentezleyerek ve çok çeşitli fitopatojenlere karşı biyokontrol ajanı olarak hareket ederek konukçularının büyümesinin desteklenmesinde önemli bir rol oynarlar (Rana vd., 2020).



Şekil 2.2 Reaktif Oksijen Türleri (ROS)'un bitkiler üzerindeki etkisi (Tyaga vd., 2022)

Endofitik mikroorganizmalar *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Deinococcus-thermus*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* ve *Verrucomicrobia* gibi farklı filumlar içerisinde yer almaktadır. En baskın ve çalışılan endofitik bakteriler *Proteobacteria*'ya aitken, bunu *Firmicutes* ve ardından *Actinobacteria* takip etmektedir. Baklagil ve baklagil olmayan bitkilerin çoğunda rapor edilen cinsler arasında en baskın

olanları *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Fusarium*, *Burkholderia*, *Rhizobium* ve *Klebsiella*'dır (Rana vd., 2020).

Endofitik mikroorganizmaların biyoinokülanlar şeklinde etkin kullanımı kimyasal gübre kullanımını azalttığı ortaya konmuştur (Saini vd., 2015). Bitkiler büyüme ve gelişmeleri için çoğunlukla azot (N), fosfor (P) ve potasyum (K) gibi besin maddelerine ihtiyaç duyarlar. Bu elementler toprakta karmaşık bileşik formda bulunur. Endofitik mikroorganizmalar, bitkiler için mikro ve makro elementleri çözündürme yeteneğine sahiptir ve toprakta bulunan kompleks bileşiği çözündürerek ve konakçı bitkilerine aktararak makro besinlerin ve mikro besinlerin alımını kolaylaştırır. Çiftçiler, ürün verimini arttırmak için çoğunlukla kimyasal gübre kullanmaktadır. Kimyasal gübre kullanımı nitratların sızmasına yol açarak yeraltı ve yerüstü sularını kirletmekte ve toprağın verimliliğini olumsuz yönde etkilemektedir. Kimyasal gübrelerin formülasyonunda kullanılan bileşenler, hayvanların yanı sıra insanların cildi veya solunum sistemi için de toksik olabilir. Ürünlerin verimliliğini arttırmak için bir başka seçenek de bitki büyümesini teşvik eden çok çeşitli özelliklere sahip endofitler gibi mikroorganizmaları içeren biyo-gübrelerin uygulanmasıdır (Garima ve Nath, 2015; Yan vd., 2019).

Endofitlerin, bitkilerin abiyotik streslere karşı dayanıklılığını artırmada çok önemli bir rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Yüksek sıcaklık stresi, ayçiçeği ve soya fasulyesi bitkilerinde endofitik fungus uygulaması aracılığıyla tolere edilmiş ve bu da bitki büyümesini ve klorofil içeriğini iyileştirmiştir (Ismail vd., 2020). Fungal endofitlerin fitohormonlar, reaktif oksijen türleri (ROS), uçucu bileşikler ve köklerin morfolojisini değiştiren ve konakçı bitkideki abiyotik strese duyarlı genleri düzenleyen ekzopolisakkaritler üreterek bitkinin çevresel stres toleransına uyumunu arttırdıkları gösterilmiştir (Phurailatpam ve Mishra, 2020; Hasanuzzaman vd., 2021; Verma vd., 2021). Su stresi altında, bitkilerde endofitler tarafından salınan çözünen maddelerin ve CO₂'nin birikmesi bitkide fotosentez hızını ve büyümeyi artırdığı gösterilmiştir (Bilal vd., 2020).

Küresel ısınma ve iklim değişikliği her yaşam formunu etkilemekte ve son zamanlarda bitkilerde de bu etki gözlenmekte ve bunun sonucunda abiyotik streslere karşı düşük tolerans giderek artmaktadır (Pandey vd., 2017). Endofitler kısa bir ömre sahip olduklarından, streslere karşı hızlı bir şekilde direnç geliştirirler. Bitki içerisinde anti-

stres metabolitleri üreterek veya konak tepkisini aktive ederek konakçısına yardımcı olurlar (Lata vd., 2018).



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Bakteri İzolatları ve Geliştirilmesi

Bu çalışmada, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bakteriyoloji laboratuvarında stoklarında bulunan, Van ili ve civarında bazı kültür ve yabanıl tahıl bitkilerinden (Poaceae familyası) izole edilmiş G96Y1, G105K2, G129K1-1, G106K1-SV, V14K3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatları kullanılmıştır (Çizelge 3.1). İzolatlar %20 gliserol içeren nutrient sıvı besiyerinde - 80°C’de saklanan saf kültürlerden geliştirilmesi için nutrient agar (NA) besi ortamı kullanılmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.1 Kullanılan izolat, konukçu ve izole edilen organ

İzolat No	İzolat Kodu	Konukçu	İzolasyon Yapılan Organ
1	G96Y1	Buğday	Yaprak
2	G106K1-SV	Buğday	Kök
3	G105K2	Domuz Ayrığı	Kök
4	V14K3	Kabak	Kök
5	V27K3	Kabak	Kök

Çizelge 3.2 İzolatların geliştirilmesi için kullanılan NA besi ortamı bileşimi

Besiyeri	Bileşen	Miktar (1 L, pH 7.5)
Nutrient Agar	Et Özütü	1 g
	Maya Özütü	2 g
	NaCl	5 g
	Pepton	5 g
	Agar	15 g

3.2 İzolatların Sıcaklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

10 mL nutrient broth (NB), cam tüplere aktarılarak ve 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Besi ortamında 30°C’ de 24 saat inkübasyonun ardından McFarland 0,5 optik densiteye ayarlanan bakteriler kültürlerinden hazırlanan besiyerlerine 100 µl inoküle edilen izolatların farklı sıcaklıklardaki gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Tüm ölçüm deneyleri üçer tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.3 İzolatların Tuz Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

10 mL nutrient broth (NB), cam tüplere aktarılarak ve 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Test izolatlarının *in vitro* NaCl toleransını belirlemek için %0, %2.5, %5, %7.5 ve %10 NaCl içeren NB sıvı besiyerleri hazırlandı. Besi ortamında 30°C’ de 24 saat inkübasyonun ardından McFarland 0,5 optik densiteye ayarlanan bakteriler kültürlerinden hazırlanan besiyerlerine 100 µl inoküle edilen izolatların gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Tüm ölçüm deneyleri üçer tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.4 İzolatların Kuraklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

10 mL nutrient broth (NB), cam tüplere aktarılarak ve 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Test izolatlarının *in vitro* kuraklık toleransını belirlemek için %0, %5, %10, %15, %20 ve %25 Polyethylene Glycol (PEG6000) içeren NB sıvı besiyerleri hazırlandı. Besiyerinde 30 °C’ de 24 saat inkübasyonun ardından McFarland 0,5 optik densiteye ayarlanan bakteriler kültürlerinden hazırlanan besiyerlerine 100 µl inoküle edilen izolatların gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir.

3.5 İzolatların Ağır Metal Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

10 mL nutrient broth (NB), cam tüplere aktarılarak ve 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. İzolatların her bir metal iyonu için Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MIK) değerleri, NB sıvı besi ortamındaki ağır metal konsantrasyonları izolat büyüyemeyene kadar kademeli olarak artırılarak belirlenmiştir. Bunun için HgCl_2 , LiCl , CoCl_3 stok solüsyonları hazırlanarak, filtrasyon yöntemi ile sterilizasyonları sağlanmıştır (Çizelge 3.3). Hazırlanan stok solüsyonlardan gerekli miktarlar 10 mL steril NB besi ortamına eklenerek, farklı konsantrasyonlarda ağır metal içeren sıvı besi ortamları hazırlanmıştır.

Çizelge 3.3 Metal stok solüsyonlarının, filtrasyon yöntemi ile sterilizasyonları

Solüsyon	Bileşen	Miktar (20 mL, 0,1 M)
CoCl_3 (MW=129,84 g/mol)	CoCl_2	0.260 g
	dH_2O	20 mL
Solüsyon	Bileşen	Miktar (20 mL, 0,1 M)
HgCl_2 (MW=271,50 g/mol)	HgCl_2	0,543 g
	dH_2O	20 mL
Solüsyon	Bileşen	Miktar (20 mL, 1 M)
LiCl (MW=42,39 g/mol)	LiCl	0,84 g
	dH_2O	20 mL



Şekil 3.1 Soldan sağa doğru sırasıyla Kobalt (CoCl_3), Lityum (LiCl) ve Civa (HgCl_2) stok solüsyonları

3.6 Bakterilerin Kısmi 16S rRNA Dizi Analizi ile Moleküler Tanımlanması

Kısmi 16S rRNA baz dizisinin belirlenmesi yöntemi ile bakterilerin tanısı; DNA izolasyonu, izole edilen DNA'nın Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması, PZR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesi, çoğaltılan DNA'nın baz dizi sırasının belirlenmesi ve bu sıranın veri tabanında bulunan mikroorganizmalara ait baz dizi sıraları ile karşılaştırılarak isimlendirilmesi aşamalarından oluşmuştur.

3.6.1 DNA İzolasyonu

PZR reaksiyonlarında kalıp olarak kullanılmak için, ilgili izolatlardan total DNA izolasyonu kaynatma yöntemi ile yapılmıştır. Bunun için yaklaşık 10^7 CFU/mL yoğunluğundaki bakteri süspansiyonundan 2 mL alınarak 10 dk kaynatılmış ve santrifüjlenerek hücre kalıntıları uzaklaştırılmıştır (Newton, 1995). Total DNA içeren supernatant temiz bir tüpe transfer edilerek, PZR reaksiyonlarında kalıp DNA kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.6.2 Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR)

PZR reaksiyonlarında 27f (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') ve 1492r (5'- TAC GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3') evrensel primer çifti kullanılmıştır (Lane, 1991). İzole edilen DNA'daki 16S rRNA gen bölgelerinin PZR ile çoğaltılması amacıyla, her bir örnek için toplam hacim 50 µl olacak şekilde aşağıdaki PZR karışım hazırlanmış ve reaksiyonlar Çizelge 3.4'te verildiği gibi gerçekleştirilmiştir.

PZR karışımı;

- 7.5 µl kalıp DNA
- 5 µl PZR Tamponu (10X)
- 3 µl $MgCl_2$ (25 mM)
- 2.5 µl Taq DNA polimeraz
- 4 µl dNTP karışımı (0.3 mM)^[1]_{SEP}
- 5 µl 27f primerinden (20 pmol)

- 5 µl 1492r primerinden (20 pmol)
- 20 µl steril distile su

Çizelge 3.4 16S rRNA bölgelerinin çoğaltılması PZR koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
95°C	5 dk	1
94°C	1 dk	
55°C	1 dk	30
72°C	2 dk	
72°C	10 dk	1

3.6.3 PZR Ürünlerinin Agaroz Jelde Yürütülmesi

5 µL PZR ürününe 1 µL jel yükleme tamponu eklenip, 1X TAE ile hazırlanmış %1'lik agaroz jeldeki kuyucuklara yüklenmiştir. PZR ürünlerinin büyüklüklerini belirlemek için agaroz jeldeki ilk kuyucuğa 100bp DNA marker yüklenmiştir. Jel 100 volta 1 saat yürütüldükten sonra etidyum bromür ile boyanarak UV ışığı altında incelenmiştir.

3.6.4 PZR Ürünlerinin Sekans Analizi

PZR ürünleri Sanger dizileme tekniği kullanılarak hizmet alımı (BM Labosis/Ankara) yolu ile yaptırılmıştır. Kısmi 16S rRNA dizilemesi 27f ileri primeri kullanılarak tek yönlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler “<https://www.ezbiocloud.net/>” adlı internet sayfasında yer alan veri tabanı ile karşılaştırılmış ve sonrasında diziler GenBank sitesine girişleri yapılarak “accession” erişim numaraları alınmıştır.

3.7 İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizinde, SAS 9.4 (SAS, 2014) paket programı kullanılmıştır. Gruplara ait ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde

genel doğrusal model (GLM) analizi yapılarak, gruplar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır



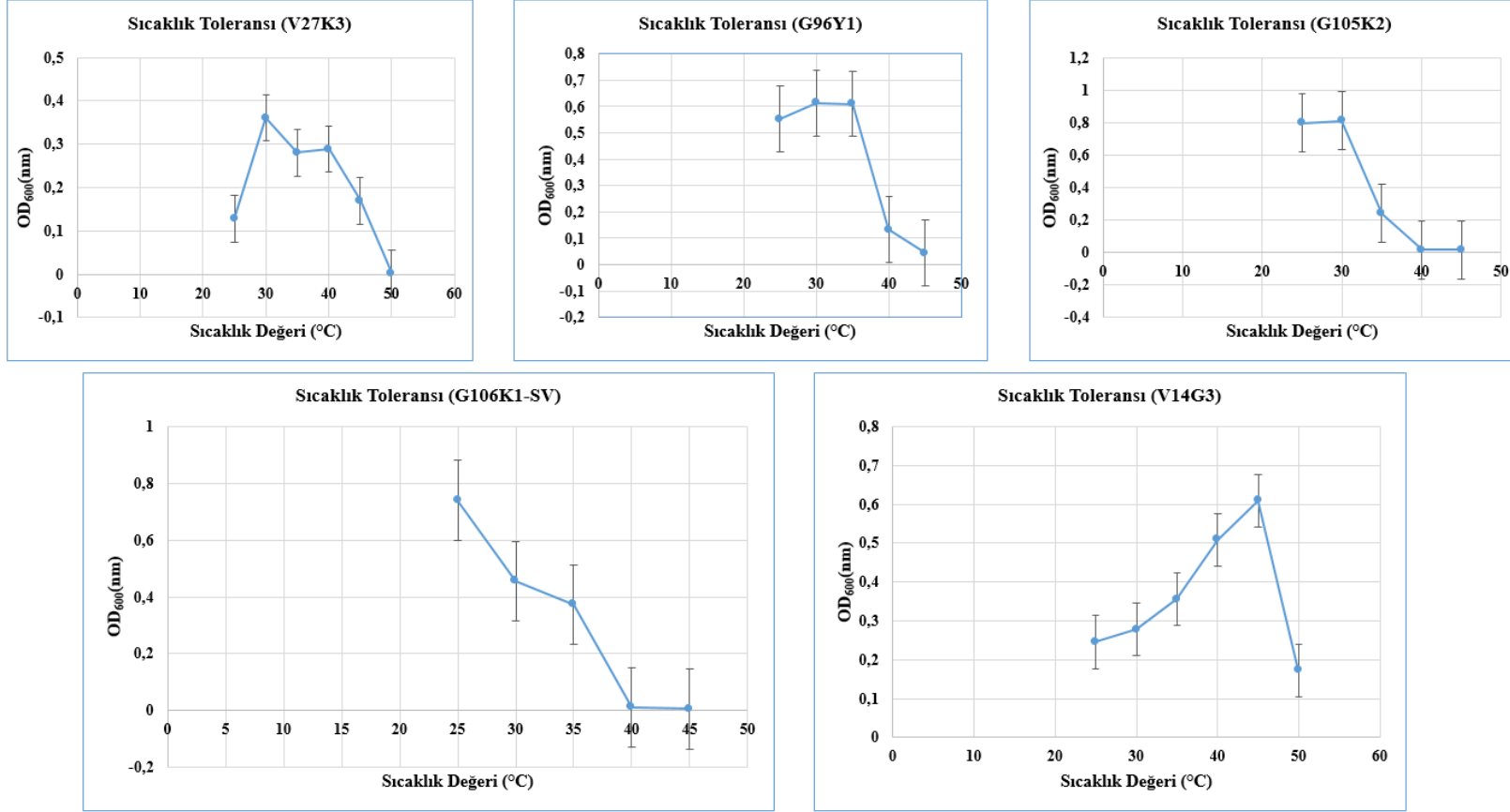
4. BULGULAR

4.1 İzolatların Sıcaklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

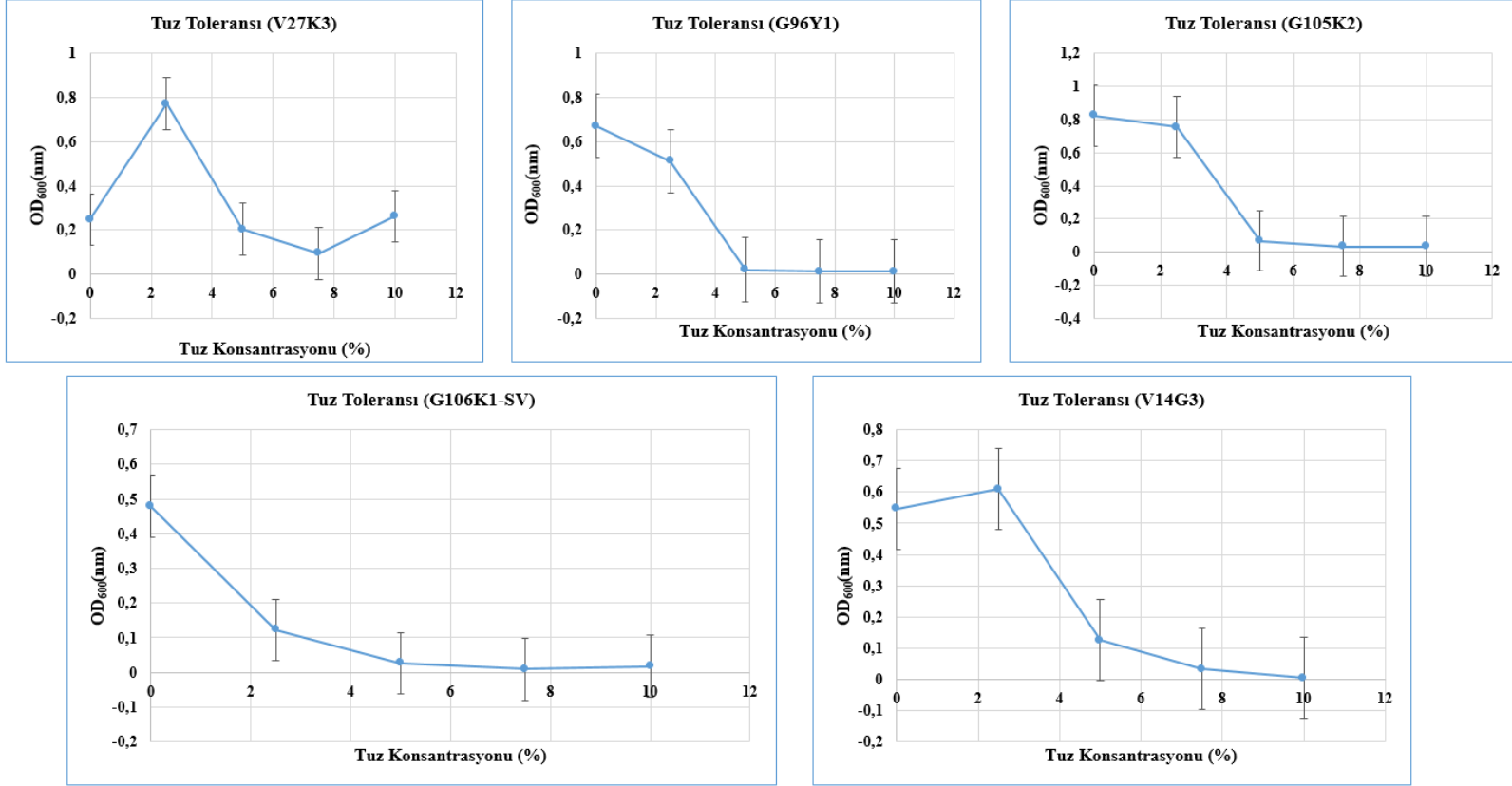
Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatlarının 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C sıcaklıklarındaki büyüme profilleri sıvı besi ortamında belirlenmiştir. Bu sebeple bakteri kültürlerinden, hazırlanan 10 ml NB sıvı besi ortamlarına 100 µl inoküle edilen izolatların, inkübatörde 24 saatlik gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorbars değerleri ölçülerek elde edilmiştir. Sonuçlar elde edildiğinde, sıcaklık stresine karşı en başarılı izolatın V14G3 olduğu gözlemlenmiştir. V14G3 izolatı 45°C sıcaklıkta dahi optimum büyüme gösterebilmiştir. G96Y1, G106K1 ve V27K3 en fazla 35°C’de optimum büyüebildikten sonra 40°C’de ve üstünde daha düşük OD₆₀₀ değeri vermişlerdir. En düşük sıcaklık toleransı ise G105K2 izolatında gözlemlenmiştir. Bu izolat 30°C ye kadar büyüme göstermiş, daha yüksek sıcaklıklara gelişememiştir (Şekil 4.1).

4.2 İzolatların Tuz Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatlarının %0 (w/v), %2.5 (w/v), %5 (w/v), %7.5 (w/v) ve %10 (w/v), NaCl içeren sıvı besi ortamlarındaki büyüme profilleri belirlenmiştir. Bu sebeple bakteri kültürlerinden, ilgili NaCl konsantrasyonlarını içeren 10 ml NB sıvı besi ortamlarına 100 µl inoküle edilen izolatların, inkübatörde 24 saatlik gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorbars değerleri ölçülerek elde edilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde V27K3 izolatının tuz stresine karşı en başarılı izolat olduğu görülmüştür. V27K3 izolatı %5 (w/v) tuz konsantrasyonunda dahi optimum derecede büyüme gösterdiği ortaya konmuştur (Şekil 4.2). G105K2 ve G14G3 izolatlarının %2.5 (w/v) tuz konsantrasyonlarından etkilenmeden optimum büyüme gösterdikleri fakat daha yüksek tuz konsantrasyonlarında büyüme profillerinin negatif etkilendiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.2). G96Y1 izolatı %2.5 (w/v) tuz konsantrasyonunda iyi bir gelişme profili ortaya koymasına rağmen kontrol tüpüne göre büyüme profilinde azalma görülmüştür (Şekil 4.2). Tuz toleransı en düşük izolat ise G106K olmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.1 İzolatların sıcaklık stresi toleransı açısından incelenmesi



Şekil 4.2 İzolatların tuz stresi toleransı açısından incelenmesi

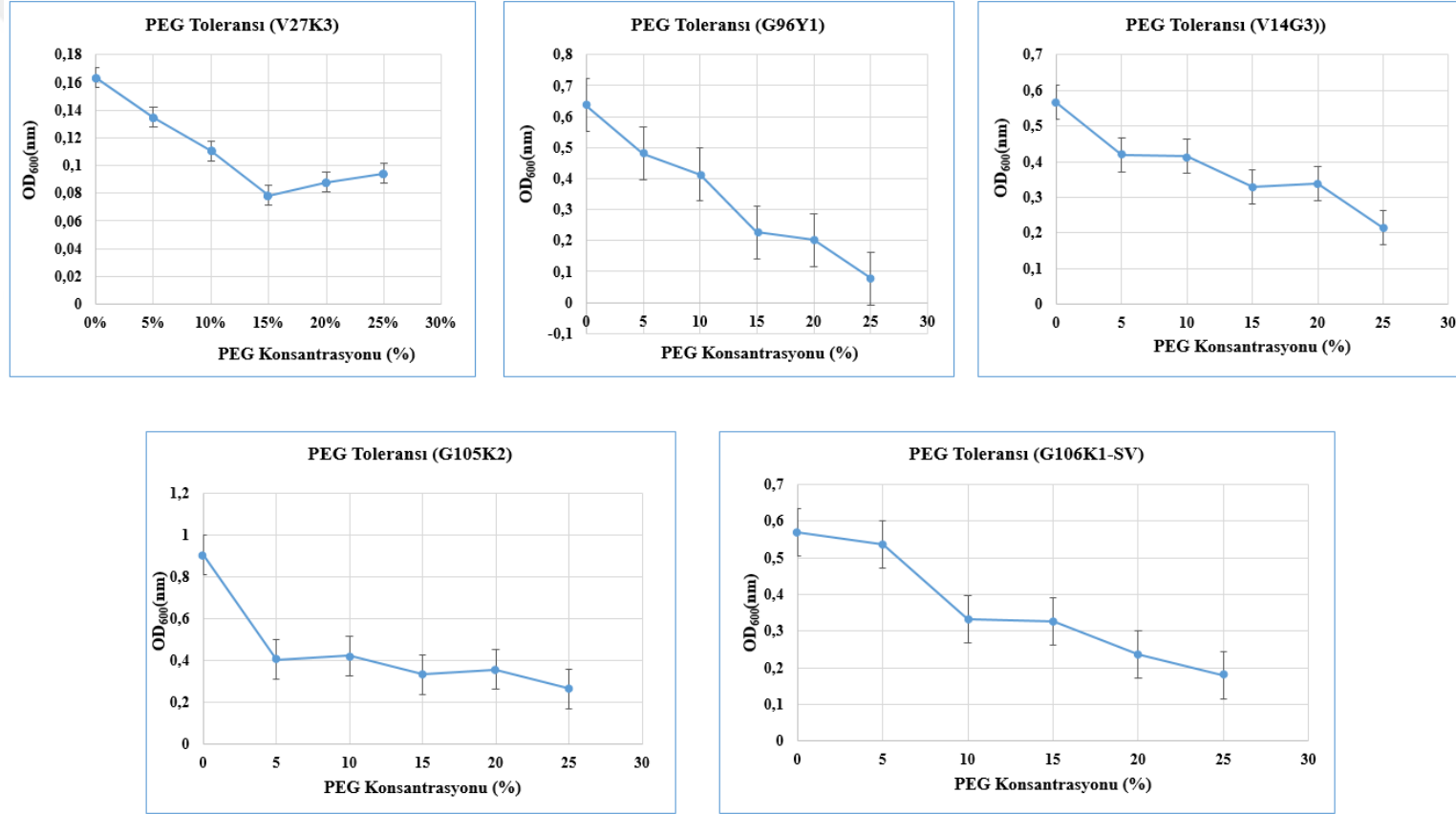
G96Y1 izolatı %2.5 (w/v) tuz konsantrasyonunda iyi bir gelişme profili ortaya koymasına rağmen kontrol tüpüne göre büyüme profilinde azalma görülmüştür (Şekil 4.2). Tuz toleransı en düşük izolat ise G106K-SV olmuştur (Şekil 4.2).

4.3 İzolatların Kuraklık Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

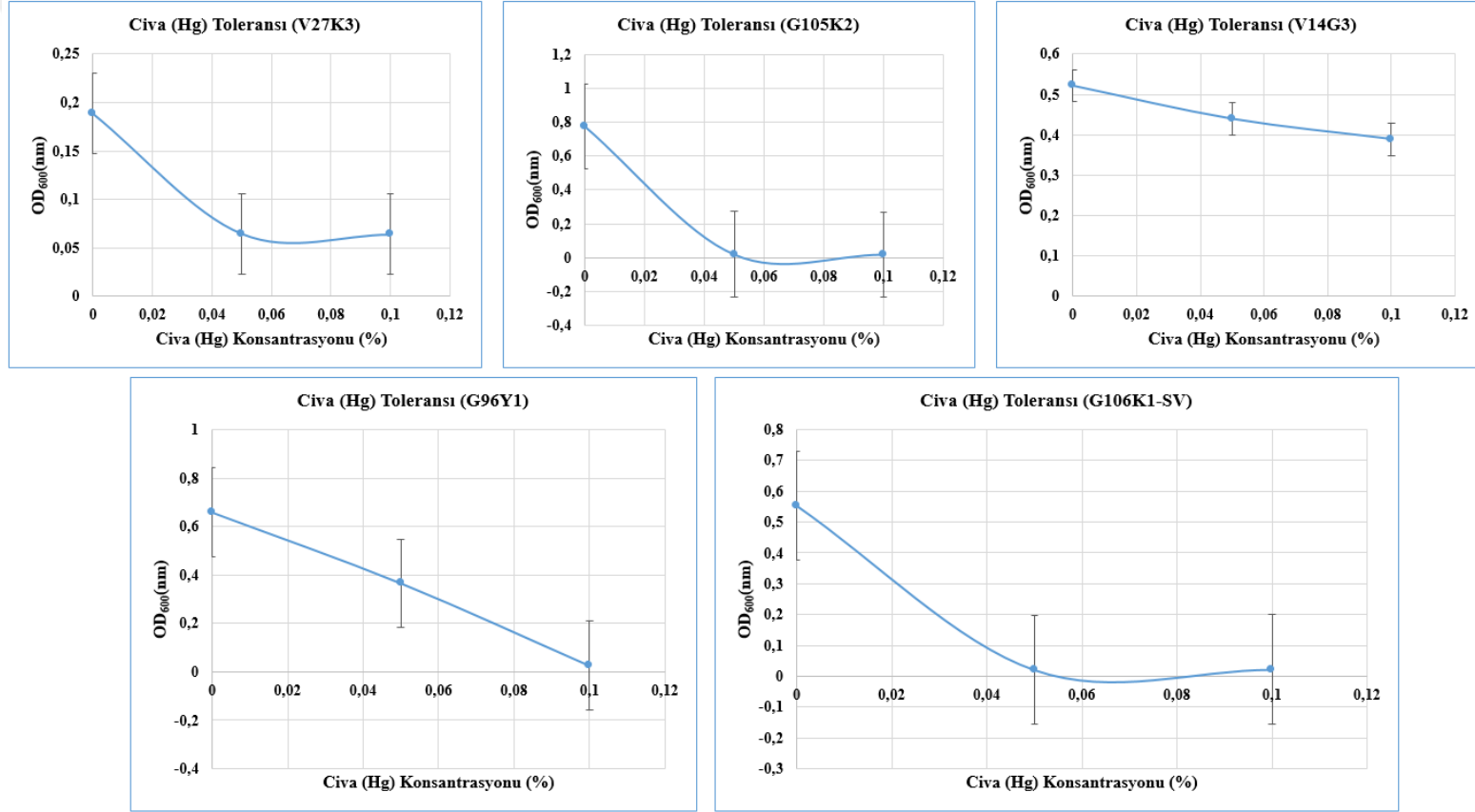
Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatlarının %0 (w/v), %5 (w/v), %10 (w/v), %15 (w/v), %20 (w/v) ve %25 (w/v), Polyethylene Glycol (PEG1000) içeren sıvı besi ortamlarındaki büyüme profilleri belirlenmiştir. Bunun için McFarland 0,5 optik densiteye ayarlanan bakteri kültürlerinden, ilgili PEG1000 konsantrasyonlarını içeren 10 ml NB sıvı besi ortamlarına 100 µl inoküle edilen izolatların, sallamalı inkübatörde 150 rpm'de 24 saatlik gelişimi OD₆₀₀ nm dalga boyunda abzorban değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde V14G3, G105K2 ve G106Y1 izolatlarının kuraklık stresine karşı en başarılı izolatlar olduğu görülmüştür. Her üç izolatın kontrol tüpüne göre %25 (w/v) PEG konsantrasyonuna kadar (%25 dahil) olmak üzere kayda değer derecede büyüme gösterdiği ortaya konmuştur (Şekil 4.3). Kontrol tüplerine göre kıyaslandığında G96Y1 izolatı %20 (w/v) PEG6000 konsantrasyonunda kayda değer bir büyüme göstermiş fakat %25 (w/v) PEG1000 içeren besi ortamında üreme gösterememiştir. (Şekil 4.3). Kuraklık stresine karşı en zayıf tolerans gösteren izolat ise V27K3 olmuştur (Şekil 4.3).

4.4 İzolatların Ağır Metal Stresi Toleransı Açısından İncelenmesi

Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatlarının Kobalt (Co), Lityum (Li) ve Cıva (Hg) ağır metallerinin yarattığı strese karşı gösterdikleri direnç profilleri sıvı besi ortamında ortaya koydukları büyüme profilleri incelenerek ortaya konmuştur. G96Y1 ve V14G3 izolatları 0.05 mM Cıva (Hg) içeren NB sıvı besi ortamında büyüme göstererek cıvaya karşı en dayanıklı izolatlar olarak değerlendirilmişlerdir. G105K2, G106K1-SV ve V27K3 izolatları kontrol besi ortamına kıyasla 0.05 mM Cıva konsantrasyonunda gelişim ortaya koyamamışlardır (Şekil 4.4).



Şekil 4.3 İzolatların kuraklık stresi toleransı açısından incelenmesi



Şekil 4.4 İzolatların Civa (Hg) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi

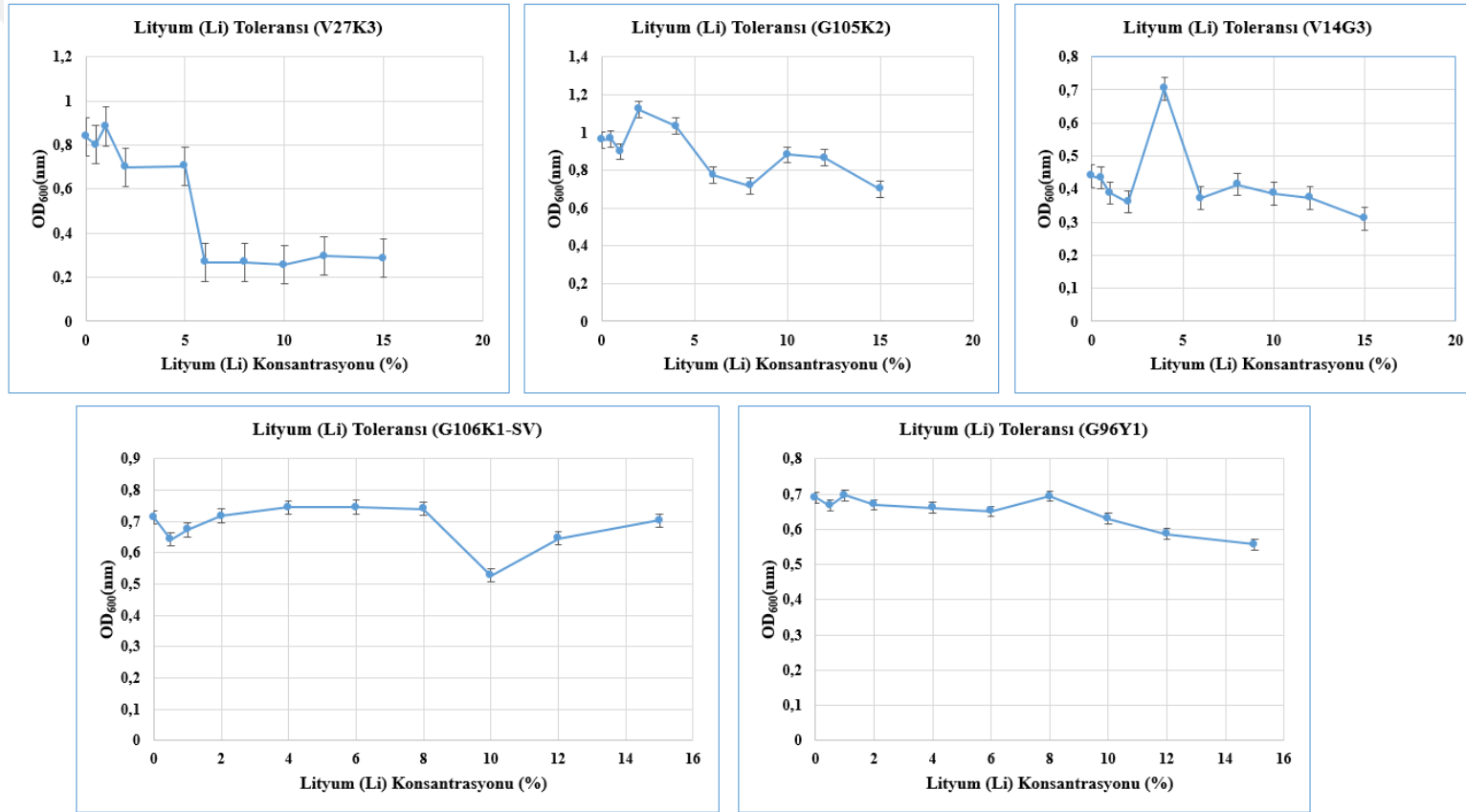
İzolatların Lityum (Li) metalinin farklı konsantrasyonlarındaki büyüme profilleri incelendiğinde 15 mM Lityum içeren NB sıvı besi ortamlarında dahil güçlü bir büyüme ortaya koyarak test edilen ağır metaller içerisinde kontrol besi ortamı ile kıyaslandığında Lityuma direnç gösterdikleri gözlemlenmiştir (Şekil 4.5). Kontrol tüpü ile kıyaslama yapıldığında izolatların tümünün Kobalt (Co) metaline karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir. Test edilen konsantrasyonlarda büyüme gösterememişlerdir (Şekil 4.6).

4.5 Bakterilerin Kısmi 16S rRNA Dizi Analizi ile Moleküler Tanımlanması

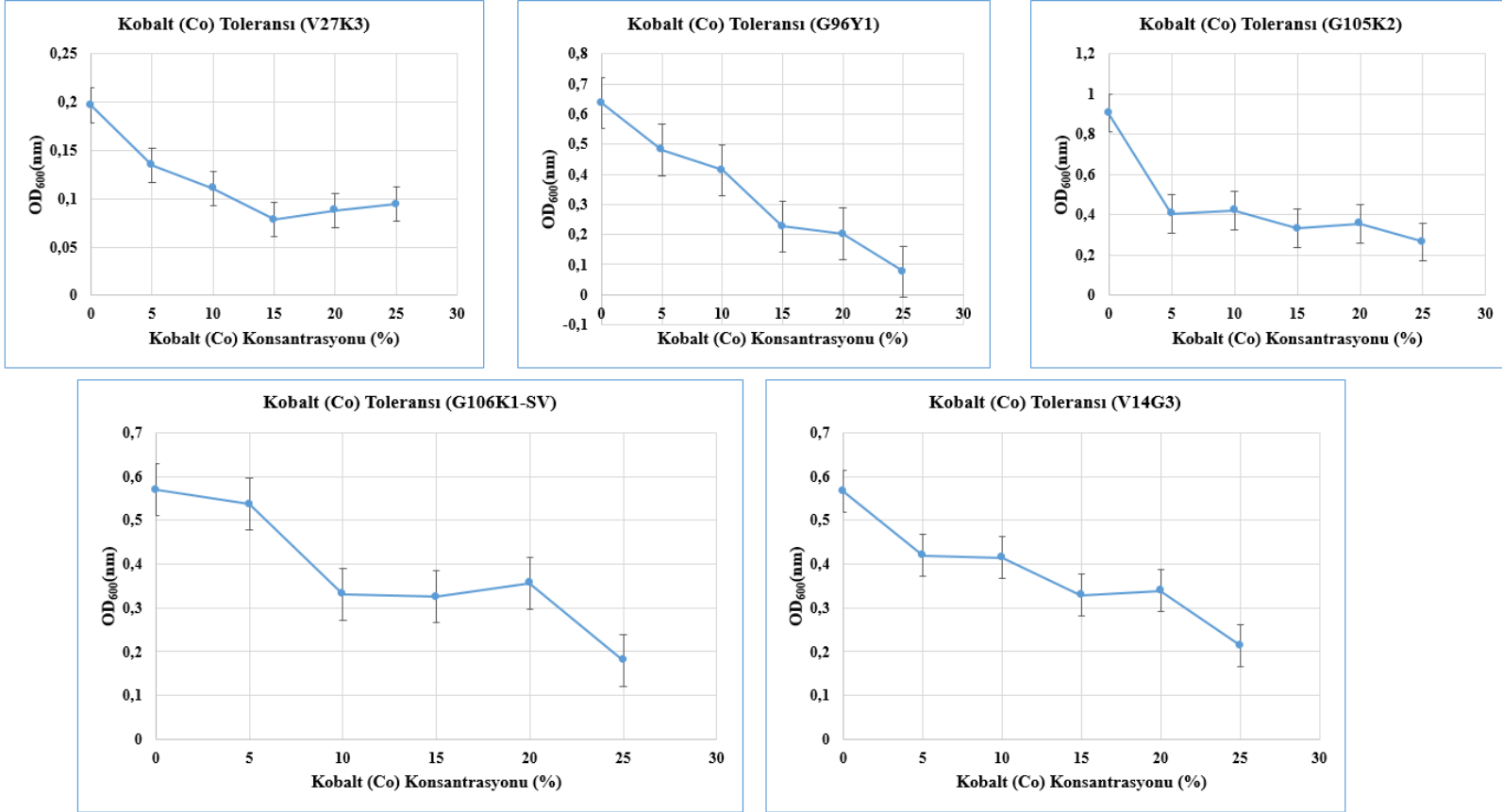
16S rRNA gen dizilimi BM Labosis Biyoteknoloji Şirketi (Türkiye) tarafından Sanger platformu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen diziler “<https://www.ezbiocloud.net/>” web sitesindeki veri tabanı kullanılarak analiz edilmiş ve daha sonra diziler GenBank sitesine giriş yapılarak “Accession” numaraları alınmıştır (Çizelge 4.1). G96Y1, V14G3, V27K3, G106K1-SV izolatları sırası ile %99.80, %100, %99.58 ve %99.55 benzerlik oranları ile *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus zhangzhouensis* ve *Pseudomonas kilonensis* suşları ile eşleşmişlerdir (Çizelge 4.1). G105K2 izolatının 16s rRNA dizileme sonucu her ne kadar %86,17 benzerlik oranı ile *Pantoea cinci* içerisinde yer alsada GenBank “Accession” numarası alacak kadar temiz bir sonuç verememiştir. Dolayısı ile bu izolatın moleküler tanımlaması tekrar edilecektir.

Çizelge 4.1 Dizi analiz sonuçlarının EzBioCloud very tabanı kullanılarak yapılan karşılaştırmalı analiz sonuçları ve GenBank erişim numaraları

İzolat Kodları	En Yakın Tür	En Yakın Suş	Benzerlik (%)	Tamamlanan Dizileme (1500 bp üzerinden) (%)	GenBank Erişim Numaraları
G96Y1	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	DSM 30006	99.80	69.4	PQ225992
V14G3	<i>Bacillus halotolerans</i>	ATCC 25096	100	63.9	PQ225993
V27K3	<i>Bacillus zhangzhouensis</i>	DW5-4	99.58	65.2	PQ225994
G106K1-SV	<i>Pseudomonas kilonensis</i>	DSM 13647	99.55	30.2	PQ225995
G105K2	<i>Pantoeae</i> sp.	-	86.17	42.1	-



Şekil 4.5 İzolatların Lityum (Li) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi



Şekil 4.6 İzolatların Kobalt (Co) ağır metal stresi toleransı açısından incelenmesi



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyotik stres, böcekler, otçullar, nematodlar, funguslar, bakteriler veya yabancı otlar gibi canlı organizmaların neden olduğu hasarı ifade eder. Bu zararlılar ve patojenler bitkilere zarar vererek büyümelerini, verimlerini ve genel sağlıklarını etkileyebilir. Örneğin, böcek beslenmesi yaprak hasarına yol açabilirken, mantar enfeksiyonları pas veya külleme gibi hastalıklara neden olabilir. Biyotik stresi yönetmek, zararlılara dayanıklı mahsul çeşitleri, biyolojik kontrol ve uygun tarımsal uygulamalar gibi stratejileri içerir (Bolaji vd., 2022). Abiyotik stres ise canlı olmayan çevresel faktörlerden kaynaklanır. Bu stres faktörleri arasında sıcaklık, ultraviyole radyasyon, tuzluluk, seller, kuraklık ve ağır metaller yer alır. Bu abiyotik stres faktörleri mahsul verimliliğinin azalmasına ve hatta bitki ölümlerine yol açabilir. Bitkiler bu zorluklara belirli hücresel mekanizmaları harekete geçirerek ve büyüme modellerini ayarlayarak yanıt verir. Örneğin, bazı bitkiler kuraklık sırasında suya erişmek için daha derin kök sistemleri geliştirirken, diğerleri UV radyasyonuna dayanmak için koruyucu bileşikler üretir. Bu tepkileri anlamak, strese dayanıklı mahsul çeşitleri ve sürdürülebilir tarım uygulamaları geliştirmek için çok önemlidir (Baweja ve Kumar, 2020; Bolaji vd., 2022).

Bu tez çalışmasında bakteri izolat kültür kütüphanemizde yer alan endofit bakteriler içerisinde laboratuvarımızda yürütülmüş olan daha önceki çalışmalar dahilinde PGP (bitki gelişimini destekleyici) markörler açısından gelecek vaat eden 5 adet izolat belirlenerek, bu izolatların *in vitro* koşullarda sıcaklık, tuz, kuraklık ve çeşitli ağır metal streslerine dayanaklılıkları incelenmiştir.

Doğal koşullarda bitkilerin, endofitik mikroorganizmalar ile yakın bir etkileşim içerisinde olduğu bilinmektedir. Endofit-konukçu etkileşimlerinde, konukçu bitki endofit mikroorganizmalara besin temin etmekte olup, biyotik ve abiyotik streslere karşı korumakta, buna karşılık endofitlerde bitkilerin büyümesini ve gelişmesini destekler. Patojenlere karşı bitkide inaktif olan savunma mekanizmalarını teşvik ettiği yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Böylece endofit ile bitki arasında mutualist bir ilişki olduğu söylenebilir. Ayrıca konukçu bitki, endofitin yaşam döngüsünün tamamlanması için önemli bileşikleri sağlayabilmektedir. Endofitler, ürün verimini artıran, enfeksiyonu ve patojeni engelleyen, hatta ortadan kaldırabilen ve faydalı etki mekanizmaları olan mikroorganizmalar olarak gelecek vaat etmektedir.

Dünya üzerinde bakteri içerikli mikrobiyal gübre ve biyopestisitlerin pek sayıda ticari preparatı yapılarak tarımda başarılı bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Ancak ülkemizde, yapılan çalışmalar ile bazı fitopatojenlere karşı etkili olduğu tespit edilmiş endofit bakteriler ile bitki büyüme düzenleyici kök bakterilerin (PGPR) biyolojik preparat olarak geliştirilmesi, ruhsatlandırılması ve hastalıklarla mücadelede kullanılması gerek kuruluşların fiziksel altyapılarından gerekse bürokratik işlemlerden kaynaklanan sebeplerden dolayı henüz yaygınlaştıramamıştır.

Gelecek yıllarda, üreticinin ve tüketicinin bilinçlenmesi ile entegre mücadele içinde biyolojik mücadelenin önemi giderek artacaktır. Bu sebeple, yakın gelecekte endofit bakterilerin kullanıldığı biyolojik mücadele çalışmalarının dünyada olduğu gibi ülkemizde de hız kazanacağı beklenmektedir.

Sıcaklık stresi bitki büyüme ve gelişimini önemli ölçüde etkiler. Isı stresi, bitkiler uzun süre boyunca aşırı güneş ışığına ve yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında ortaya çıkar. Bu koşullar, bir bitkinin normal şekilde işlev görme veya büyüme yeteneğini kalıcı olarak değiştirebilir. Küresel sıcaklıktaki 1°C'lik bir artış bile tarımsal çıktıları önemli ölçüde azaltabilir (Lee vd., 2024). Isı stresi proteinleri, enzimleri ve metabolik süreçleri etkileyerek fotosentezin ve büyümenin azalmasına neden olur (Tanveer vd., 2023). Çalışmada, G96Y1, G105K2, G106K1-SV, V14G3 ve V27K3 kod numaralı endofit bakteri izolatlarının 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C sıcaklıklarındaki büyüme profilleri sıvı bes ortamında belirlenmiştir. V14G3 izolatı 45°C sıcaklıkta dahi optimum büyüme gösterebilmiştir. G96Y1, G106K1-SV ve V27K3 en fazla 35°C'de optimum büyüebildikten sonra 40°C'de ve üstünde daha düşük OD₆₀₀ değeri vermişlerdir. Bitki doku içlerinde veya aralarında yaşamlarını sürdüren mikroorganizmalar olarak bilinen endofitler, bitkilerin yüksek sıcaklık gibi zorlu ortamlarda bile gelişmesine yardımcı olarak sürdürülebilir tarım için umut verici çözümler sunmaktadır (Tyagi vd., 2022). Endofitler bitkilerin düşük ve yüksek sıcaklıklara karşı toleransını artırır, bu sayede hücrel hasar azalır ve fotosentez artar (Naveed vd., 2014). Örneğin, *Serendipita indica* (*S. indica*) bitki büyümesi ve sıcaklık dahil stres toleransı üzerindeki olumlu etkileriyle bilinen bir fungal endofittir (Tyagi vd., 2022). Bir diğer çalışmada bakteriyel (*Burkholderia phytofirmans* strain PsJN and *Enterobacter* sp. FD17 aşılamanın kuraklık stresinin yarattığı etkileri en aza indirdiği ve sürgün biyokütlesini, kök biyokütlesini, yaprak alanını, klorofil içeriğini, fotosentezi ve PSII'nin fotokimyasal etkinliğini önemli

ölçüde artırdığını ortaya koymuştur (Naveed vd., 2014). Tianbaojiao (*Musa acuminata*), soğuğa duyarlı bir muz çeşididir. Yapılan bir çalışmada, *S. indica*'nın kolonizasyonu, fotokimyasal dönüşüm verimliliğini ve elektronların taşınma hızını artırarak ve muz yapraklarında bulunan fotosentetik reaksiyon merkezindeki hasarı hafifleterek bitkinin sıcaklık stresine daha iyi tolerans gösterdiğini ortaya koymuştur (Li vd., 2017; 2019). *Dichanthelium lanuginosum* çim türünün Yellowstone Ulusal Parkı'nda 38 ile 65°C arasında değişen toprak sıcaklıklarında hayatta kalma yeteneği, *Curvularia protuberata* mantarı ile doğrudan ilişkilendirilmiştir (Redman vd., 2002). Endofitik mantarların buğdayda boy, dane ağırlığı ve ikinci nesil tohumların çimlenmesi açısından ısı toleransını artırdığı gösterilmiştir (Hubbard vd., 2014). Yukarıdaki literatür çalışmaları endofit mikroorganizmalar ve bitki arasında var olan simbiyotik ilişki, bitkilerin sıcaklık stresi ile daha iyi başa çıktıklarını açık bir şekilde ortaya koymaktadır. Bu açıdan bakıldığında *in vitro* denemelerimizde arttırılan sıcaklık değerlerinde iyi bir büyüme profili ortaya koyan V14G3 izolatımız *in vivo* denemeler için iyi bir aday olarak göze çarpmaktadır. Toprağın sodyum klorür (NaCl) iyonları ile tuzlanması bitki fonksiyonlarını engelleyerek ürün veriminin düşmesine neden olur. Toprağın fiziksel özelliklerini etkilemenin yanı sıra, yüksek toprak tuzluluğu bitkileri doğrudan ve olumsuz yönde etkiler- hem yerel bitki örtüsünü hem de ekilen ürünleri, tohum çimlenmesini, kök büyümesini ve ürünlerin fizyolojik işlevlerini ciddi şekilde etkiler (Oster ve Jayawardane, 1998). Dünya genelinde toplam ekili tarım arazilerinin %20'sinin ve sulanan tarım arazilerinin %33'ünün yüksek tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir. Bunun başlıca nedeni tuz iyonlarının doğrudan bitki hücreleri üzerindeki toksisitesinin yanı sıra toprağın bitki kökleri etrafındaki genel ozmotik etkileridir.

Toprak-kök ara yüzeyindeki yüksek ozmotik potansiyeller, bitkinin topraktan su emme kabiliyetini azaltır (Machado ve Serralheiro, 2017). Bitkiler yüz binlerce yıl boyunca düşük yağış ve yüksek tuzluluğa tolerans gösterecek mekanizmalar geliştirmiştir. Ancak, son 200 yılda insan faaliyetleri dünyanın birçok bölgesinde doğal hidrolojik dengeyi yoğun bir şekilde bozmuştur. Bu durum, tuzun tüm peyzajlarda dağılımında önemli sonuçlara yol açarak hem doğal hem de tarımsal ortamların ciddi şekilde bozulmasına neden olmuştur (Gupta vd., 2021). Geçtiğimiz on yılda, endofitik mikroorganizmalar tarafından sağlanan tuz toleransının çeşitli mekanizmalarını anlamak için önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Çeşitli tahıllarda endofitik mantarlarla

kolonizasyonunun patojenlere karşı sistemik direnci indüklediği, koruyucu metabolitlerin ve ozmoprotektanların seviyelerini artırarak stresi azalttığı, ROS'un neden olduğu hasarı önlemek için antioksidan sistemleri aktive ettiği, tuz kaynaklı kök solunumunu azalttığı ve bitkilerin büyümesi üzerindeki tuz etkilerini en aza indirmek için fitohormon profilini modüle ettiği bildirilmiştir (Nia vd., 2012; Jogawat vd., 2013; Rewald vd., 2015; Ghaffari vd., 2016; Li vd., 2017). Bu etkiler, bitki büyümesini ve tuzluluk stresine karşı dayanıklılığı artırmak için koordine edilmiştir. Bu iyileştirici etkiler, endofit kolonize (ENC) bitkiler tarafından endofitik olmayan (NENC) kolonize bitkilere kıyasla sergilenen gelişmiş bitki büyümesi açısından değerlendirilmiştir. Endofitik mantar kolonizasyonunun *Zea mays* L. (Rho vd., 2018), soya fasulyesi (Hamayun vd., 2017), biyokütlesini artırdığı gösterilmiştir. Tuz edinimi ve translokasyonunu düzenlemek için kök sistemi mimarisindeki değişiklikler, bitkinin tuz stresine karşı direncini arttırmak için çok önemlidir (Jung ve McCouch, 2013). Yun vd. (2018), tuzlu koşullar altında ENC mısır bitkilerinde kök uzunluğu ve hacminin NENC mısır bitkilerine göre daha fazla olduğunu gözlemlemiş ve benzer gözlemler *Hordeum vulgare* (Waller vd., 2005) ve *Oryza sativa* L. (Kord vd., 2019) bitkilerinde de rapor edilmiştir. Tuz stresinde, ENC bitkilerinin ozmolit birikimi nedeniyle NENC bitkilerinden daha yüksek ozmotik potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (Contreras-Cornejo vd., 2014). Osmolitler ayrıca reaktif oksijen türlerinin (ROS) uzaklaştırılmasında, membran bütünlüğünün korunmasında ve enzimlerin stabilize edilmesinde rol oynar. Osmolitler aynı zamanda ozmoprotektanlar olarak da tanımlanmaktadır (Azad ve Kaminskyj 2016; Liv vd., 2017). Sayısı daha da arttırılabilecek bu ve benzeri çalışmalar, endofit mikroorganizmaların bitki hücrelerinde osmolit artırımı, kök büyümesine pozitif etki yaratmaları gibi çok farklı moleküler mekanizmalar ile bitkilerin tuz stresine karşı daha iyi bir adaptasyon sergilemelerine katkı sağlamaktadırlar.

V27K3 kod numaralı endofit izolatımız yapılan *in vitro* tuz tolerans testlerinde vermiş olduğu büyüme profili göz önüne alındığında, bitkilerde tuz stresine ilişkin yapılabilecek *in vivo* çalışmalarda gelecek vaat etmektedir.

Endofitik bakteriler değerli ortaklar olarak bitkilerin su kısıtlı ortamlarda gelişmesine yardımcı olurlar. Bugüne kadar, kuraklık stresinin bitki büyümesi ve verimi üzerindeki olumsuz etkisini hafifletmek amacıyla kuraklığa dayanıklı çeşitler oluşturmak için çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Geleneksel ıslah ve genetik mühendisliği

yaklaşımları kuraklığa toleranslı ve daha yüksek verimli bitkiler yaratmak için kullanılmıştır (Ngumbi ve Kloepper, 2016). Bununla birlikte, geleneksel ıslah, zaman alıcıdır, muhtemelen diğer faydalı özellikleri kaybettirir ve ıslah bir seferde sadece bir ürün verir. Ayrıca, genetiği değiştirilmiş bitki ürünlerine karşı farklı ülkeler arasında değişiklik gösteren tüketici tepkisi nedeniyle transgenik bir ürünün pazardaki başarısı garanti değildir. Bu bağlamda, bitki-mikrop etkileşimleri, bitkilerin kuraklık stresi de dahil olmak üzere abiyotik streslere verdiği tepkileri etkileyebilir. Endofitik bakteriler, rizosferik bakteri topluluğuna kıyasla bitkilerle doğrudan ilişki içerisinde (Ullah vd., 2019). Bu nedenle, endofitik bakterilerin kuraklık toleransındaki rolünü açıklamak çok önemlidir. Su eksikliğine karşı bitki adaptasyonlarının altında yatan mekanizmayı belirlemek, kuraklığa dayanıklı çeşitlerin ve uygun maliyetli yönetim uygulamalarının geliştirilmesi için önemli bir adımdır. Endofitik bakteriler bitki hormonları (IAA, ABA ve gibberellinler), amonyak, besin maddelerinin biyoyararlanımı (rizosferdeki endofitler) ve fitopatojenlere karşı antagonistik etki yoluyla kök uzunluğunu ve yoğunluğunu artırır (Ullah vd., 2017). Daha yüksek kök uzunluğu ve yoğunluğu, bitkilerin kuraklık stresini tolere etmesini sağlayan su ve besin alımını iyileştirir (Timmusk vd., 2014). Osmotik ayarlama, kuraklık stresi altında bitki hücresinde organik ve inorganik maddelerin aktif birikimidir. Biriken maddeler, şekerler (örn. sukroz), glisin betain, organik asitler (örn. malat), inorganik iyonlar (örn. kalsiyum) ve prolin gibi uyumlu maddeler olarak da bilinir. Genel olarak kuraklık stresi, özellikle prolin olmak üzere bir dizi uyumlu maddede artış ile ilişkilidir (Kiani vd., 2007). Endofitik bakterilerin kuraklık stresi altında uyumlu maddeleri, örneğin şeker ve prolin içeriğini artırdığı bildirilmiştir. Örneğin, *Tephrosia apollinea*'nın yapraklarından izole edilen *Sphingomonas* sp. LK11, aşılانmış soya fasulyesi bitkilerinde artan şeker ve amino asit (glisin, glutamat ve prolin) üretimi yoluyla kuraklığa toleransı artırmıştır (Asaf vd., 2017). Atmosferik O₂'nin kısmi indirgenmesi hidroksil radikali (HO[•]), hidrojen peroksit (H₂O₂), süperoksit anyon radikali (O₂^{•-}) ve singlet oksijen (¹O₂) dahil olmak üzere reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine yol açar (Ullah vd., 2017). İzole edilen bazı endofit bakterileri kuraklık toleransı açısından değerlendirmek için kavak bitkileri bu bakterilerle aşılانmış ve elde edilen bitkiler diğer kuraklık toleransını artırıcı parametrelere ek olarak ROS aktivitesinde azalma göstermiştir (Khan vd., 2016). Bir başka raporda, *Alyssum serpyllifolium* yapraklarından izole edilen kuraklığa dayanıklı endofitik bakteri *Pseudomonas azotoformans* ASS1,

kuraklık, aşırı sıcaklık, ağır metaller ve tuzluluk streslerine karşı direnç göstermiştir (Khan vd., 2014). *In vitro* denemelerde V14G3, G105K2 ve G106Y1 izolatlarının kuraklık stresine karşı en başarılı izolatlar olduğu görülmüş ve bu izolatlar gelecek çalışmalarda *in vivo* bitki denemelerinde kullanılmak zere gelecek vaat etmektedir.

Çinko, bakır, kobalt ve nikel gibi ağır metaller toprakta doğal olarak bulunur ve önemli biyolojik süreçlerin işleyişi için gereklidir. Bununla birlikte konsantrasyonları bitki işleyişi için optimum değerleri aştığında, reaktif oksijen türlerinin üretimini artıran morfolojik anormalliklere ve metabolik bozukluklara neden olarak mahsul verimliliğini azaltabilir (Tiware ve Lata, 2018). Endofitik bakteriler, ağır metal stresine karşı bitki direncini artırma yetenekleriyle dikkat çekmektedir. Endofitik bakteriler mahsul türlerinin büyümesini teşvik etmek ve ağır metal stres toleransını artırmak için sürdürülebilir ve etkili bir alternatif olarak önerilmektedir. Bakteriler ağır metallerle kirlenmiş ortamlara iyi adapte olabilirler ve sergiledikleri direnç mekanizmaları arasında biyoakümülyasyon ve enzimatik indirgeme veya toksik olmayan formlara oksidasyon yer almaktadır (Tiware ve Lata, 2018). Bu mekanizmalara ek olarak, bazı mikroorganizmaların bitkilerde metal birikimini teşvik ettiği ve stresle ilgili genlerin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Srivastava vd., 2013). *Arabidopsis thaliana*'da, bitki gelişimin teşvik eden bakteriler ile birlikteliğin alüminyum stresine ilgili genlerin aşırı ekspresyonunu indüklediği, dolayısıyla bitki-bakteri birlikteliğinin bitkinin sergilediği tolerans mekanizmalarını geliştirdiği belirlenmiştir (Farh vd., 2017). Ağır metal stresine (alüminyum, arsenik, kadmiyum, bakır, krom, manganez, nikel, kurşun ve çinko) yanıt olarak endofitik bakterilerle aşılamanın konukçu bitki biyokütlesi üzerindeki etki boyutunun meta-analizi endofitik bakterilerin farklı ağır metallere maruz kalan konukçu bitkilerin biyokütle üretimini artırdığını ve bitkileri çeşitli metal toksisitelerinden korumadaki etkinliklerini gösterilmiştir (Franco-Franklin vd., 2021).

In vitro çalışmalarımızda kullandığımız G96Y1, V14G3, V27K3, G106K1-SV izolatları yapılan kısmi 16s rRNA dizi analizleri sonucuna göre sırası ile %99.80, %100, %99.58 ve %99.55 benzerlik oranları ile *Acinetobacter calcoaceticus*, *Bacillus halotolerans*, *Bacillus zhangzhouensis* ve *Pseudomonas kilonensis* suşları ile eşleşmişlerdir (Çizelge 4.1).

Acinetobacter calcoaceticus kanalizasyon ve toprakta bulunan bir toprak bakterisidir. Genellikle patojenik olmadığı düşünülse de özellikle yaşlılarda hastane

enfeksiyonlarına neden olabilmektedir. Tarım bağlamında, yakın zamanda yapılan bir çalışmada *Rhizophagus intraradices* (bir arbusküler mikorizal mantar) ve *Acinetobacter calcoaceticus* 'ın soya fasulyesi büyümesi ve toprak sağlığı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Ji vd., 2023). Sonuçlar, *R. intraradices* ve *A. calcoaceticus*'un soya fasulyesi taneleri ve rizosfer toprağındaki karbendazim (pestisit) kalıntısını etkili bir şekilde azaltabileceğini göstermiştir. Ayrıca *A. calcoaceticus* enerji kaynağı olarak çok çeşitli organik maddeleri kullanabilmektedir. Bu özelliği *A. Calcoaceticus*'ı biyoremediasyonda, kirlenmiş alanların temizlenmesi için değerli kılmaktadır (Jung ve Park, 2015).

Bacillus halotolerans önemli tarımsal uygulamaları olan gram pozitif bir bakteridir. Yeni bir tür olarak izole edeielen *B. halotolerans* LDFZ001, patojenik mantar *Rhizoctonia solani* Kühn'e (buğday, pirinç ve mısırdaki kılif yanıklığı hastalığına neden olan) karşı antagonistik aktivite ortaya koymuştur. Bu bakteri, *R. solani*'nin büyümesini güçlü bir şekilde bastırılmış ve yapılan genom analizinde yeni bir kijenimisin biyosentetik gen kümesi de dahil olmak üzere on adet ikincil metabolit biyosentetik gen kümesi keşfedilmiştir (Feng vd., 2022). Bir başka çalışmada, buğday taç çürüklüğünün kontrolü için *B. halotolerans* QTH8 araştırılmıştır. Bakteri, patojen *Fusarium pseudograminearum*'a karşı antagonistik etkiler sergilemiştir (Liv vd., 2002). Halofilik PGPR (*B. halotolerans* KKD1 dahil) ile aşılama, bitkilerdeki tuz stresini azalttığı gösterilmiştir (Wu vd., 2022).

Bacillus zhangzhouensis sürdürülebilir tarımda potansiyel etkileri olan diğer bir *Bacillus* cinsine dahil gram pozitif bakteridir. *B. zhangzhouensis*, *B. subtilis* ve *B. cereus*'tan oluşan yeni bir konsorsiyum, bitki büyümesini teşvik etmek için çalışılmıştır. Bu çok suşlu PGP bakteriyel aşılamanın bitki büyümesini artırdığı ve sürdürülebilir kalkınmaya katkıda bulunabileceği belirtilmiştir (Mukhopadhyay vd., 2023). *Bacillus* spp. kuraklık stresinin etkilerini hafifleterek bitki büyümesini iyileştirebilir. Stres tolerans mekanizmalarını indükler, su taşınımını düzenler ve topraktan besin alımını artırır. *Bacillus* spp. ayrıca bitkilerde tuz stresine dayanıklılığa da katkıda bulunur. Kök kolonizasyonu, bitkilerin yüksek tuzluluk seviyeleriyle başa çıkmasına yardımcı olurlar (Patani vd., 2024).

Pseudomonas kilonensis Gram-negatif bir toprak bakterisidir ve sürdürülebilir tarımdaki potansiyel rolü için çalışılmıştır. Organik tarımda, organik tarlalardan elde

edilen mikrobiyomların, fitopatojenlere karşı etkili olan antagonistik *Pseudomonas* tür çeşitliliği açısından oldukça zengin olduğu gösterilmiştir. Bu türler bitki hastalıklarını baskılayarak sürdürülebilir tarımı teşvik edebilirler (Khatri vd., 2023). *P. kilonensis* de dahil olmak üzere *Pseudomonas* türleri, bitki biyokontrolü ve biyoremediasyon gibi çeşitli biyoteknolojik amaçlar için kullanılmaktadır. Metabolomik çalışmalar, *Pseudomonas* suşları tarafından üretilen çok çeşitli bilinmeyen bileşikler ortaya çıkararak biyoteknolojik uygulamalardaki potansiyellerini vurgulamaktadır (Rieusset vd., 2020; Lauritsen vd., 2022).

G105K2 izolatının 16s rRNA dizileme sonucu her ne kadar %86.17 benzerlik oranı ile *Pantoea* cinci içerisinde yer alsada GenBank “Accession” numarası alacak kadar temiz bir sonuç verememiştir. Dolayısı ile bu izolatın moleküler tanımlaması tekrar edilecektir. *Pantoea*, yüksek derecede çeşitliliğe ve patojen, epifit, endofit ve saprofit gibi çeşitli yaşam tarzlarına sahip, her yerde bulunan bir bakteridir ve hayvanlar, insanlar ve bitkiler gibi çeşitli coğrafi ekolojik nişlerden, konaklardan, su ve toprak gibi diğer bazı çevresel sistemlerden sıklıkla izole edilmiştir (Lv vd., 2022). Ayrıca, bazı *Pantoea* suşları (örneğin *P. stewartii*, *P. ananatis*) bilinen bitki patojenleri iken (Coutinho ve Venter, 2009; Roper, 2011), diğer birçok *Pantoea* türü mükemmel biyokontrol ajanları veya güçlü bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPB) olarak işlev görür (Walterson ve Stavrinos, 2015). Çok yönlülükleri ve hem toprak hem de bitki kolonizasyon yetenekleri nedeniyle, faydalı *Pantoea* suşları bu nedenle tarımsal ve biyoteknolojik uygulamalar için yeni ürünlerin geliştirilmesi açısından büyük ilgi görmektedir (Nascimento vd., 2020).

Son birkaç on yılda, abiyotik stresler küresel olarak mahsul büyümesi ve verimi için çok kötü sonuçlara yol açmışlardır. Bu streslerle başa çıkmak için, bitki-mikroorganizma etkileşimleri de dahil olmak üzere çeşitli yaklaşımlar değerlendirilmektedir. Mikroorganizmaların bitki büyümesine ve verimine doğal olarak yardımcı olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Endofitik bakteriler, bitki dokularında bulunan ve bitkinin kuraklık stresi de dahil olmak üzere abiyotik streslerle başa çıkmasına yardımcı olan en güvenli bakteriler arasındadır. Endofitik bakterilerin aşılama yoluyla uygulanması bitkilerin iç dokularını kolonize edebilir, sonuç olarak kök büyümesini, antioksidanları ve bağış su içeriğini artırabilir. Ayrıca, oksinler, gibberellinler, ABA, sitokininler ve ACC deaminaz gibi çeşitli bitki büyümesini düzenleyen ve abiyotik streslere toleranslı

maddeleri de serbest bırakabilir. Ayrıca, gelecekte endofitik bakteriler aracılığıyla abiyotik streslere toleransın altında yatan yeni mekanizmaların keşfedilmesi de mümkün olacaktır.





KAYNAKLAR

- Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Alqarawi, A. A., John, R., Egamberdieva, D., Guzel, S. (2015). Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L) through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*, 6, 868. doi: 10.3389/fpls.2015.00868
- Aiqing, S., Somayanda, I., Sebastian, S. V., Singh, K., Gill, K., Prasad, P. V. V., Jagadish, S. K. (2018). Heat stress during flowering affects time of day of flowering, seed set, and grain quality in spring wheat. *Crop Science*, 58(1), 380-392. doi: 10.2135/cropsci2017.04.0221
- Asaf, S., Khan, A. L., Khan, M. A., Imran, Q. M., Yun, B. W., Lee, I. J. (2017). Osmoprotective functions conferred to soybean plants via inoculation with *Sphingomonas* sp. LK11 and exogenous trehalose. *Microbiological Research*, 205, 135–145. doi: 10.1016/j.micres.2017.08.009
- Baweja, P., Kumar, G. (2020). Abiotic stress in plants: An Overview. In: Giri, B., Sharma, M.P. (eds) **Plant stress biology**. Springer, Singapore. doi: 10.1007/978-981-15-9380-2_1
- Bheemanahalli, R., Sunoj, V. J., Saripalli, G., Prasad, P. V., Balyan, H. S., Gupta, P. K., ... Jagadish, S. K. (2019). Quantifying the impact of heat stress on pollen germination, seed set, and grain filling in spring wheat. *Crop Science*, 59(2), 684-696. doi: 10.2135/cropsci2018.05.0292
- Bilal, S., Shahzad, R., Imran, M., Jan, R., Kim, K. M., Lee, I. J. (2020). Synergistic association of endophytic fungi enhances *Glycine max* L. resilience to combined abiotic stresses: Heavy metals, high temperature and drought stress. *Industrial Crops and Products*, 143, 111931. doi: 10.1016/j.indcrop.2019.111931
- Bolaji Umar, O., Amudalat Ranti, L., Shehu Abdulbaki, A., Lukman Bola, A., Khadijat Abdulhamid, A., Ramat Biola, M., Oluwagbenga Victor, K. (2022). *Stresses in Plants: Biotic and Abiotic* IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.100501
- Boretti, A., Rosa, L. (2019). Reassessing the projections of the world water development report. *NPJ Clean Water*, 2(1), 15. doi: 10.1038/s41545-019-0039-9
- Bray, E.A., Bailey-Serres, J., Weretilnyk, E. (2000) Responses to abiotic stresses. In: Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL (eds) **Biochemistry and molecular biology of plants**. American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp 1158–1203.
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Alfaro-Cuevas, R., López-Bucio, J. (2014). *Trichoderma* spp. Improve growth of *Arabidopsis* seedlings under salt stress through enhanced root development, osmolite production, and Na⁺ elimination through root exudates. *Molecular Plant-Microbe Interactions*: MPMI, 27(6), 503–514. doi: 10.1094/MPMI-09-13-0265-R
- Coutinho, T. A., Venter, S. N. (2009). *Pantoea ananatis*: an unconventional plant pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 10(3), 325–335. doi: 10.1111/j.1364-3703.2009.00542.x
- Cramer, G. R. (2010). Abiotic stress and plant responses from the whole vine to the genes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 86-93. doi: 10.1111/j.1755-0238.2009.00058.x
- Cramer, G. R., Urano, K., Delrot, S., Pezzotti, M., Shinozaki, K. (2011). Effects of abiotic stress on plants: a systems biology perspective. *BMC Plant Biology*, 11, 163. doi: 10.1186/1471-2229-11-163

- Dinneny, J. R., Long, T. A., Wang, J. Y., Jung, J. W., Mace, D., Pointer, S., Barron, C., Brady, S. M., Schiefelbein, J., Benfey, P. N. (2008). Cell identity mediates the response of Arabidopsis roots to abiotic stress. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5878), 942–945. doi: 10.1126/science.1153795
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., Sadia, S., Nasim, W., Adkins, S., Saud, S., Ihsan, M. Z., Alharby, H., Wu, C., Wang, D., Huang, J. (2017). Crop Production under Drought and Heat Stress: Plant Responses and Management Options. *Frontiers In Plant Science*, 8, 1147. doi: 10.3389/fpls.2017.01147
- Farh, M. E., Kim, Y. J., Sukweenadhi, J., Singh, P., Yang, D. C. (2017). Aluminium resistant, plant growth promoting bacteria induce overexpression of aluminium stress related genes in arabidopsis thaliana and increase the ginseng tolerance against aluminium stress. *Microbiological Research*, 200, 45–52. doi: 10.1016/j.micres.2017.04.004
- Feng, Z., Xu, M., Yang, J., Zhang, R., Geng, Z., Mao, T., Sheng, Y., Wang, L., Zhang, J., Zhang, H. (2022). Molecular characterization of a novel strain of *Bacillus halotolerans* protecting wheat from sheath blight disease caused by *Rhizoctonia solani* Kühn. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1019512. doi: 10.3389/fpls.2022.1019512
- Franco-Franklin, V., Moreno-Riascos, S., Ghneim-Herrera, T. (2021). Are endophytic bacteria an option for increasing heavy metal tolerance of plants? A meta-analysis of the effect size. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 603668. doi: 10.3389/fenvs.2020.603668
- Garima, G., Nath, J. P. (2015). Screening of potential PGPR candidates as future biofertilizers-a strategic approach from lab to field. *Research Journal of Biotechnology*, 10(11), 48-62.
- Ghaffari, M. R., Ghabooli, M., Khatabi, B., Hajirezaei, M. R., Schweizer, P., Salekdeh, G. H. (2016). Metabolic and transcriptional response of central metabolism affected by root endophytic fungus *Piriformospora indica* under salinity in barley. *Plant Molecular Biology*, 90(6), 699–717. doi: 10.1007/s11103-016-0461-z
- Ghori, N. H., Ghori, T., Hayat, M. Q., Imadi, S. R., Gul, A., Altay, V., Ozturk, M. (2019). Heavy metal stress and responses in plants. *International Journal Of Environmental Science And Technology*, 16, 1807-1828. doi: 10.1007/s13762-019-02215-8
- Gong, Z., Xiong, L., Shi, H., Yang, S., Herrera-Estrella, L. R., Xu, G., ... Zhu, J. K. (2020). Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. *Science China Life Sciences*, 63, 635-674. doi: 10.1007/s11427-020-1683-x
- Gul, N., Wani, I. A., Mir, R. A., Nowshahri, J. A., Aslam, S., Gupta, R., ... Aslam, S. (2023). Plant growth promoting microorganisms mediated abiotic stress tolerance in crop plants: a critical appraisal. *Plant Growth Regulation*, 100(1), 7-24. doi: 10.1007/s10725-022-00951-5
- Guo, Q., Meng, L., Han, J., Mao, P., Tian, X., Zheng, M., Mur, L. A. (2020). SOS1 is a key systemic regulator of salt secretion and K⁺/Na⁺ homeostasis in the recretohalophyte *Karelinia caspia*. *Environmental And Experimental Botany*, 177, 104098. doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.104098
- Gupta, S., Schillaci, M., Walker, R., Smith, P. M., Watt, M., & Roessner, U. (2021). Alleviation of salinity stress in plants by endophytic plant-fungal symbiosis: Current knowledge, perspectives and future directions. *Plant Soil*, 461, 219–244. doi: 10.1007/s11104-020-04618-w

- Hamayun, M., Hussain, A., Khan, S. A., Kim, H. Y., Khan, A. L., Waqas, M., Irshad, M., Iqbal, A., Rehman, G., Jan, S., Lee, I. J. (2017). Gibberellins Producing Endophytic Fungus *Porostereum spadiceum* AGH786 Rescues Growth of Salt Affected Soybean. *Frontiers in Microbiology*, 8, 686. doi: 10.3389/fmicb.2017.00686
- Hasanuzzaman, M. (Ed.). (2020). Plant Ecophysiology and Adaptation under Climate Change: ***Mechanisms and perspectives II: Mechanisms of adaptation and stress Amelioration***. Springer Nature. doi: 10.1007/978-981-15-2172-0
- Hasanuzzaman, M., Parvin, K., Bardhan, K., Nahar, K., Anee, T. I., Masud, A. A. C., Fotopoulos, V. (2021). Biostimulants for the Regulation of Reactive Oxygen Species Metabolism in Plants under Abiotic Stress. *Cells*, 10(10), 2537. doi: 10.3390/cells10102537
- Hubbard, M., Germida, J. J., Vujanovic, V. (2014). Fungal endophytes enhance wheat heat and drought tolerance in terms of grain yield and second-generation seed viability. *Journal of Applied Microbiology*, 116(1), 109–122. doi: 10.1111/jam.12311
- Ismail, Hamayun, M., Hussain, A., Iqbal, A., Khan, S. A., Lee, I. J. (2020). *Aspergillus niger* boosted heat stress tolerance in sunflower and soybean via regulating their metabolic and antioxidant system. *Journal of Plant Interactions*, 15(1), 223-232. doi: 10.1080/17429145.2020.1771444
- Jie, W. G., Tan, Y. W., Yang, D. Y., Kan, L. B. (2023). Effects of *Rhizophagus intraradices* and *Acinetobacter calcoaceticus* on Soybean Growth and Carbendazim Residue. *Sustainability*, 15(13), 10322. doi: 10.3390/su151310322
- Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N., Johri, A. K. (2013). *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling Behavior*, 8(10), 10.4161/psb.26891. doi: 10.4161/psb.26891
- Jung, J. K., McCouch, S. (2013). Getting to the roots of it: Genetic and hormonal control of root architecture. *Frontiers in Plant Science*, 4, 186. doi: 10.3389/fpls.2013.00186
- Jung, J., Park, W. (2015). *Acinetobacter* species as model microorganisms in environmental microbiology: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99, 2533–2548. doi: 10.1007/s00253-015-6439-y
- Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S. M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., Al-Khiziri, S., Ullah, I., Ali, L., Jung, H. Y., Lee, I. J. (2014). Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology (Seoul, Korea)*, 52(8), 689–695. doi: 10.1007/s12275-014-4002-7
- Khan, Z., Rho, H., Firrincieli, A., Hung, S. H., Luna, V., Masciarelli, O., ... Doty, S. L. (2016). Growth enhancement and drought tolerance of hybrid poplar upon inoculation with endophyte consortia. *Current Plant Biology*, 6, 38-47. doi: 10.1016/j.cpb.2016.08.001
- Khatri, S., Sazinas, P., Strube, M. L., Ding, L., Dubey, S., Shivay, Y. S., ... Jelsbak, L. (2023). *Pseudomonas* is a key player in conferring disease suppressiveness in organic farming. *Plant and Soil*, 1-20. doi: 10.1007/s11104-023-05927-6
- Kiani, S. P., Talia, P., Maury, P., Grieu, P., Heinz, R., Perrault, A., ... Sarrafi, A. (2007). Genetic analysis of plant water status and osmotic adjustment in recombinant inbred lines of sunflower under two water treatments. *Plant Science*, 172(4), 773-787. doi: 10.1016/j.plantsci.2006.12.007

- Kopecká, R., Kameniarová, M., Černý, M., Brzobohatý, B., Novák, J. (2023). Abiotic Stress in Crop Production. *International Journal Of Molecular Sciences*, 24(7), doi: 10.3390/ijms24076603
- Kord, H., Fakheri, B., Ghabooli, M., Solouki, M., Emamjomeh, A., Khatabi, B., Sepehri, M., Salekdeh, G. H., Ghaffari, M. R. (2019). Salinity-associated microRNAs and their potential roles in mediating salt tolerance in rice colonized by the endophytic root fungus *Piriformospora indica*. *Functional Integrative Genomics*, 19(4), 659–672. doi: 10.1007/s10142-019-00671-6
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Döring, P., Vierling, E., Scharf, K. D. (2007). Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(3), 310–316. doi: 10.1016/j.pbi.2007.04.011
- Koyro, HW., Ahmad, P., Geissler, N. (2012). Abiotic Stress Responses in Plants: An Overview. In: Ahmad, P., Prasad, M. (eds) ***Environmental adaptations and stress tolerance of plants in the era of climate change***. Springer, New York, NY. doi: 10.1007/978-1-4614-0815-4_1
- Koza, N. A., Adedayo, A. A., Babalola, O. O., Kappo, A. P. (2022). Microorganisms in Plant Growth and Development: Roles in Abiotic Stress Tolerance and Secondary Metabolites Secretion. *Microorganisms*, 10(8). doi: 10.3390/microorganisms10081528
- Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., White, J. F., Jr. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, 66(4), 268–276. doi: 10.1111/lam.12855
- Lauritsen, J. G., Hansen, M. L., Bech, P. K., Jelsbak, L., Gram, L., Strube, M. L. (2021). Identification and Differentiation of *Pseudomonas* Species in Field Samples Using an rpoD Amplicon Sequencing Methodology. *mSystems*, 6(4), e0070421. doi: 10.1128/mSystems.00704-21
- Lee, Z., Lim, J. A., Harikrishna, J. A., Islam, T., Abd Rahim, M. H., Yaacob, J. S. (2024). Regulation of plant responses to temperature stress: A key factor in food security and for mitigating effects of climate change. *International Journal of Plant Production*, 18(2), 141-159. doi: 10.1007/s42106-024-00282-7
- Li, D., Mensah, R. A., Liu, F., Tian, N., Qi, Q., Yeh, K., ... Lai, Z. (2019). Effects of *Piriformospora indica* on rooting and growth of tissue-cultured banana (*Musa acuminata* cv. Tianbaojiao) seedlings. *Scientia Horticulturae*, 257, 108649. doi: 10.1016/j.scienta.2019.108649
- Li, L., Li, L., Wang, X., Zhu, P., Wu, H., Qi, S. (2017). Plant growth-promoting endophyte *Piriformospora indica* alleviates salinity stress in *Medicago truncatula*. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*. 119, 211–223. doi: 10.1016/j.plaphy.2017.08.029.
- Li, S., Xu, J., Fu, L., Xu, G., Lin, X., Qiao, J., Xia, Y. (2022). Biocontrol of Wheat Crown Rot Using *Bacillus halotolerans* QTH8. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 11(5), 595. doi: 10.3390/pathogens11050595
- Liu, B., Asseng, S., Müller, C., Ewert, F., Elliott, J., Lobell, D. B., ... Zhu, Y. (2016). Similar estimates of temperature impacts on global wheat yield by three independent methods. *Nature Climate Change*, 6(12), 1130-1136. doi: 10.1038/nclimate3115
- Lv, L., Luo, J., Ahmed, T., Zaki, H. E. M., Tian, Y., Shahid, M. S., Chen, J., Li, B. (2022). Beneficial Effect and Potential Risk of *Pantoea* on Rice Production. *Plants (Basel, Switzerland)*, 11(19), 2608. doi: 10.3390/plants11192608

- Machado, R. M. A., Serralheiro, R. P. (2017). Soil salinity: effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. doi: 10.3390/horticulturae3020030
- Mukhopadhyay, M., Mukherjee, A., Ganguli, S., Chakraborti, A., Roy, S., Choudhury, S. S., Subramaniyan, V., Kumarasamy, V., Sayed, A. A., El-Demerdash, F. M., Almutairi, M. H., Şuţan, A., Dhara, B., Mitra, A. K. (2023). Marvels of Bacilli in soil amendment for plant-growth promotion toward sustainable development having futuristic socio-economic implications. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1293302. doi: 10.3389/fmicb.2023.1293302
- Nascimento, F. X., Hernandez, A. G., Glick, B. R., Rossi, M. J. (2020). The extreme plant-growth-promoting properties of *Pantoea phytobeneficialis* MSR2 revealed by functional and genomic analysis. *Environmental Microbiology*, 22(4), 1341–1355. doi: 10.1111/1462-2920.14946
- Naveed, M., Mitter, B., Reichenauer, T. G., Wiecezorek, K., Sessitsch, A. (2014). Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. *Environmental and Experimental Botany*, 97, 30–39. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.09.014
- Ngumbi, E., Kloepper, J. (2016). Bacterial-mediated drought tolerance: current and future prospects. *Applied Soil Ecology*, 105, 109–125. doi: 10.1016/j.apsoil.2016.04.009
- Nia, S. H., Zarea, M. J., Rejali, F., Varma, A. (2012). Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum* strains from saline or non-saline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11(2), 113–121. doi: 10.1016/j.jssas.2012.02.001
- Ortiz, D. F., Ruscitti, T., McCue, K. F., Ow, D. W. (1995). Transport of metal-binding peptides by HMT1, a fission yeast ABC-type vacuolar membrane protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 270(9), 4721–4728. doi: 10.1074/jbc.270.9.4721
- Oster, J. D., Jayawardane, N. S. (1998). Agricultural management of sodic soils. In **'Sodic soils: Distribution, properties, management, and environmental consequences'**. (Eds ME Sumner and R Naidu) pp. 125–147.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Frontiers in Plant Science*, 8, 537. doi: 10.3389/fpls.2017.00537
- Patani, A., Patel, M., Islam, S., Yadav, V. K., Prajapati, D., Yadav, A. N., Sahoo, D. K., Patel, A. (2024). Recent advances in *Bacillus*-mediated plant growth enhancement: a paradigm shift in redefining crop resilience. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 40(2), 77. doi: 10.1007/s11274-024-03903-5
- Rana, K. L., Kour, D., Kaur, T., Devi, R., Yadav, A. N., Yadav, N., Dhaliwal, H. S., Saxena, A. K. (2020). Endophytic microbes: biodiversity, plant growth-promoting mechanisms and potential applications for agricultural sustainability. *Antonie van Leeuwenhoek*, 113(8), 1075–1107. doi: 10.1007/s10482-020-01429-y
- Redman, R. S., Sheehan, K. B., Stout, R. G., Rodriguez, R. J., Henson, J. M. (2002). Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 298(5598), 1581–1581. doi: 10.1126/science.1078055
- Rewald, B., Holzer, L., Göransson, H. (2015). Arbuscular mycorrhiza inoculum reduces root respiration and improves biomass accumulation of salt-stressed *Ulmus glabra* seedlings. *Urban Forestry Urban Greening*, 14(2), 432–437. doi: 10.1016/j.ufug.2015.04.011

- Rho, H., Hsieh, M., Kandel, S. L., Cantillo, J., Doty, S. L., Kim, S. H. (2018). Do Endophytes Promote Growth of Host Plants Under Stress? A Meta-Analysis on Plant Stress Mitigation by Endophytes. *Microbial Ecology*, 75(2), 407–418. doi: 10.1007/s00248-017-1054-3
- Rieusset, L., Rey, M., Muller, D., Vacheron, J., Gerin, F., Dubost, A., Comte, G., Prigent-Combaret, C. (2020). Secondary metabolites from plant-associated *Pseudomonas* are overproduced in biofilm. *Microbial Biotechnology*, 13(5), 1562–1580. doi: 10.1111/1751-7915.13598
- Rollins, J. A., Habte, E., Templer, S. E., Colby, T., Schmidt, J., von Korff, M. (2013). Leaf proteome alterations in the context of physiological and morphological responses to drought and heat stress in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Journal Of Experimental Botany*, 64(11), 3201–3212. doi: 10.1093/jxb/ert158
- Roper, M. C. (2011). *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*: lessons learned from a xylem-dwelling pathogen of sweet corn. *Molecular Plant Pathology*, 12(7), 628–637. doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00698.x
- Saini, R., Kumar, V., Dudeja, S. S., Pathak, D. V. (2015). Beneficial effects of inoculation of endophytic bacterial isolates from roots and nodules in chickpea. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(10), 207–221.
- Smith, B. N., Harris, L. C., McCarlie, V. W., Stradling, D. L., Thygerson, T. (2001). Time, plant growth, respiration, and temperature. In: Pessarakli M (ed) **Handbook of plant and crop physiology**. Marcel Dekker, New York, pp 1–12.
- Srivastava, S., Verma, P. C., Chaudhry, V., Singh, N., Abhilash, P. C., Kumar, K. V., ... Singh, N. (2013). Influence of inoculation of arsenic-resistant *Staphylococcus arlettae* on growth and arsenic uptake in *Brassica juncea* (L.) Czern. Var. R-46. *Journal of Hazardous Materials*, 262, 1039–1047. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.08.019
- Tanveer, M., Mahmood, A., Sarfraz, B., Zia, M. A., Javaid, M. M., Bibi, S., ... Jabbar, A. (2023). Mechanism and Approaches to Enhancing Heat Stress Tolerance in Crop Plants. In **Climate-Resilient Agriculture, Vol 2: Agro-Biotechnological Advancement for Crop Production** (pp. 499-520). Cham: Springer International Publishing.
- Timmusk, S., Abd El-Daim, I. A., Copolovici, L., Tanilas, T., Kännaste, A., Behers, L., Nevo, E., Seisenbaeva, G., Stenström, E., Niinemets, Ü. (2014). Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. *PloS one*, 9(5), e96086. doi: 10.1371/journal.pone.0096086
- Tyagi, J., Chaudhary, P., Mishra, A., Khatwani, M., Dey, S., Varma, A. (2022). Role of endophytes in abiotic stress tolerance: with special emphasis on *Serendipita indica*. *International Journal of Environmental Research*, 16(4), 62. doi: 10.1007/s41742-022-00439-0
- Tiwari, S., and Lata, C. (2018). Heavy metal stress, signaling, and tolerance due to plant-associated microbes: an overview. *Front. Plant Sci.* 9, 452. <https://doi:10.3389/fpls.2018.00452>
- Ullah, A., Mushtaq, H., Fahad, S., Hakima, Shah, A., Chaudhary, H. J. (2017). Plant growth promoting potential of bacterial endophytes in novel association with *Olea ferruginea* and *Withania coagulans*. *Microbiology*, 86, 119–127. doi: 10.1134/S0026261717010155

- Ullah, A., Nisar, M., Ali, H., Hazrat, A., Hayat, K., Keerio, A. A., Ihsan, M., Laiq, M., Ullah, S., Fahad, S., Khan, A., Khan, A. H., Akbar, A., Yang, X. (2019). Drought tolerance improvement in plants: an endophytic bacterial approach. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(18), 7385–7397. doi: 10.1007/s00253-019-10045-4
- Ullah, A., Sun, H., Yang, X., Zhang, X. (2017). Drought coping strategies in cotton: increased crop per drop. *Plant Biotechnology Journal*, 15(3), 271–284. doi: 10.1111/pbi.12688
- Verma, H., Kumar, D., Kumar, V., Kumari, M., Singh, S. K., Sharma, V. K., Droby, S., Santoyo, G., White, J. F., Kumar, A. (2021). The Potential Application of Endophytes in Management of Stress from Drought and Salinity in Crop Plants. *Microorganisms*, 9(8), 1729. doi: 10.3390/microorganisms9081729
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Heier, T., Hückelhoven, R., Neumann, C., von Wettstein, D., Franken, P., Kogel, K. H. (2005). The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt-stress tolerance, disease resistance, and higher yield. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(38), 13386–13391. doi: 10.1073/pnas.0504423102
- Walterson, A. M., Stavrinos, J. (2015). *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(6), 968–984. doi: 10.1093/femsre/fuv027
- Wang, Z., Li, G., Sun, H., Ma, L., Guo, Y., Zhao, Z., ... Mei, L. (2018). Effects of drought stress on photosynthesis and photosynthetic Electron Transport Chain in Young Apple Tree Leaves. *Biology Open*, 7(11), bio035279. doi: 10.1242/bio.035279
- Williams, L. E., Pittman, J. K., Hall, J. L. (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1465(1-2), 104–126. doi: 10.1016/s0005-2736(00)00133-4
- Wu, X., Fan, Y., Wang, R., Zhao, Q., Ali, Q., Wu, H., Gu, Q., Borriss, R., Xie, Y., Gao, X. (2022). *Bacillus halotolerans* KKD1 induces physiological, metabolic and molecular reprogramming in wheat under saline condition. *Frontiers in Plant Science*, 13, 978066. doi: 10.3389/fpls.2022.978066
- Yan, L., Zhu, J., Zhao, X., Shi, J., Jiang, C., Shao, D. (2019). Beneficial effects of endophytic fungi colonization on plants. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(8), 3327–3340. doi: 10.1007/s00253-019-09713-2
- Yun, P., Xu, L., Wang, S. S., Shabala, L., Shabala, S., Zhang, W. Y. (2018). *Piriformospora indica* improves salinity stress tolerance in *Zea mays* L. plants by regulating Na⁺ and K⁺ loading in root and allocating K⁺ in shoot. *Plant Growth Regulation*, 86(2), 323–331. doi: 10.1007/s10725-018-0431-3
- Zhang, Y., Yu, X., Zhang, W., Lang, D., Zhang, X., Cui, G., Zhang, X. (2019). Interactions Between Endophytes and Plants: Beneficial Effect of Endophytes to Ameliorate Biotic and Abiotic Stresses in Plants. *Journal of Plant Biology*, 62, 1–13. doi: 10.1007/s12374-018-0274-5



ÖZ GEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Şevin DEMİR

Eğitim Bilgileri

Lisans :
Üniversite : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Fakülte : Ziraat Fakültesi
Bölüm : Bitki Koruma Bölümü
Mezuniyet Yılı : 2020





VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih 23/09/2024

Tez Başlığı: Bitki Büyümesini Teşvik Edici Markörler Barındıran Bakteriyel İzolatların Bazı Abiyotik Stres Koşullarına Dayanıklılığının *In Vitro* Koşullarda İncelenmesi

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışmamın, kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç bölümlerinden oluşan toplam 45 sayfalık kısmına ilişkin, 23/09/2024 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre tezin benzerlik oranı %9 (Dokuz) dur.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Tarih ve İmza
23.09.2024

Adı Soyadı: Şevin DEMİR
Öğrenci No: 21910001193
Anabilim Dalı: Tarımsal Biyoteknoloji
Programı:
Statüsü: (X) Yüksek lisans () Doktora

DANIŞMAN
UYGUNDUR

ENSTİTÜ ONAYI
UYGUNDUR