

**TUZ STRESİ KOŞULLARI ALTINDA BUĞDAYIN ÜRÜN
VERİMİNİ VE GELİŞİMİNİ ARTIRMAK İÇİN ACC DEAMİNAZ
İÇEREN BAKTERİLERİN İZOLASYONU TANILANMASI VE
ETKİNLİĞİNİN SAPTANMASI**

**Özgür ATEŞ
Doktora tezi**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Kasım 2017**

**TUZ STRESİ KOŞULLARI ALTINDA BUĞDAYIN ÜRÜN VERİMİNİ VE
GELİŞİMİNİ ARTIRMAK İÇİN ACC DEAMİNAZ İÇEREN BAKTERİLERİN
İZOLASYONU TANILANMASI VE ETKİNLİĞİNİN SAPTANMASI**

**Özgür ATEŞ
DOKTORA TEZİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Merih KIVANÇ**

**Eskişehir
Anadolu Üniversitesi
Kasım 2017**

*Bu Tez Çalışması BAP Komisyonunca kabul edilen 1305F090' no.lu proje kapsamında
desteklenmiştir.*

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Özgür ATEŞ’ in “Tuz Stresi Koşulları Altında Buğdayın Ürün Verimini ve Gelişimini Artırmak İçin ACC Deaminaz İçeren Bakterilerin İzolasyonu Tanılanması ve Etkinliğinin Saptanması” başlıklı tezi 09.11.2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Biyoloji Anabilim dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvanı-Adı soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı) : Prof. Dr. Merih KIVANÇ

Üye : Prof. Dr. Kıymet GÜVEN

Üye : Yrd.Doç.Dr. Ertuğrul KARAŞ

Üye :Prof. Dr. Mustafa YAMAÇ

Üye :Prof. Dr. Çiğdem KÜÇÜK

Enstitü Müdürü

ÖZET

TUZ STRESİ KOŞULLARI ALTINDA BUĞDAYIN ÜRÜN VERİMİNİ VE GELİŞİMİNİ ARTIRMAK İÇİN ACC DEAMİNAZ İÇEREN BAKTERİLERİN İZOLASYONU TANILANMASI VE ETKİNLİĞİNİN SAPTANMASI

Özgür ATEŞ

Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Kasım, 2017

Danışman: Prof.Dr. Merih KIVANÇ

Bu çalışmada Eskişehir ve çevresinde tuzlu alanlarda yetişen buğday bitkilerinin kök bölgelerinden ACC Deaminaz enzimini içeren bakteri türlerini izole edip tür tanılamalarını yapmak, laboratuvar koşullarında etkinliklerini saptayıp etkin oldukları saptanan bakteri türleri buğday bitkisine aşılanarak buğdayın tuza dayanımındaki artışı belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

Çalışma kapsamında izolasyonu yapılan bakteri izolatlarının tuzlu koşullarda etkinliğinin araştırılması amacıyla petri denemeleri kurulmuş ve petri denemeleri sonucunda etkin oldukları saptanan 23 bakteri izolatı ile kavanoz testleri kurulmuştur. Kavanoz testleri sonucunda *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera*, *Lelliottia amnigena*, *Arthrobacter arilaitensis* ve *Pseudomonas putida* izolatları ile saksı denemelerinin kurulmasına karar verilmiştir.

Saksı denemeleri 4 tuz dozunda 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Tuz konuları T₀: Kontrol (0,95 dS/m), T₁: 3,98 dS/m, T₂: 7,80 dS/m, T₃: 11,05 dS/m olarak belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda saksı başına verim, biyomas, karoteneoid, MSİ ve K miktarlarının artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak azalma gösterdiği saptanmıştır. ACC deaminaz içeren bakteri ile aşılanan buğdaylarda kontrole göre daha yüksek değerler elde edilmiştir. Benzer şekilde artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğday yapraklarında Na, prolin ve MDA miktarlarında artış görülürken ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılanan buğdaylarda kontrole göre artışın daha az olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: ACC Deaminaz, BBTEB, Buğday, Tuz stresi.

ABSTRACT
**THE ISOLATION, IDENTIFICATION AND INVESTIGATION OF THE
EFFECTIVENESS OF BACTERIA CONTAINING ACC DEAMINASE USE TO
INCREASE GROWTH AND YIELD OF WHEAT UNDER SALINITY**

Özgür ATEŞ
Anadolu University Graduate School of Sciences
Biology Programme, November, 2017
Supervisor: Prof.Dr. Merih KIVANÇ

This study was carried out to isolate and identify bacterial species containing ACC deaminase enzyme from the root rhizosphere of wheat from Eskişehir region and to determine the increase the resistance of the wheat to salt stress through bacterial inoculation.

In the scope of the study, petri experiments were carried out to investigate the effectiveness of isolating bacterial isolates in saline conditions. 23 bacteria isolates which found to be effective as a result of petri dishes, were tested in jars. As a result of the jar tests, it was decided to establish pot experiment with *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera*, *Lelliottia amnigena*, *Arthrobacter arilaitensis* and *Pseudomonas putida* isolates.

The pot experiments were carried out in 4 replicates with 4 salt doses. The salt contents were determined as T0: Control (0,95) T1: 3,98 , T2: 7,80 and T3: 11,05 dS / m. In pot experiments, each pot was inoculated with bacteria four wheat seeds were sown and wheat development was observed.

As a result of the analyzes made, yields, biomass, carotenoids, MSI and K contents per pot were found to decrease due to increasing salt concentrations. Higher values were obtained in wheat inoculated with ACC deaminase than in control. As a result of our study, it was determined that inoculated with bacteria containing ACC deaminase enzyme increased salt tolerance in wheat.

Keywords: ACC Deaminase, PGPR, Wheat, Salt Stress.

TEŞEKKÜR

Doktoramın başlangıcından bitimine kadar, deneyimi ve bilgisi ile her türlü desteği sağlayan değerli danışman hocam Prof. Dr. Merih KIVANÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesinde bulunan sayın hocalarım Prof. Dr. Kıymet GÜVEN ve Yrd. Doç. Dr. Ertuğrul KARAS'a verdikleri destek nedeniyle teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımını esirgemeyen Uzman Erdoğan ÇAKIR'a, mesai arkadaşlarım Gülser YALÇIN, Kadriye TAŞPINAR, Fatih KIZILASLAN, İsmail DİNEK, Oğuzhan ÇAKICI ve Aynur ATMACA' ya yardımlarından dolayı teşekkür ederim

Bu aşamaya gelirken, her zaman yanımda yer alan annem, babam, ve kardeşlerime bana duydukları güvenden dolayı teşekkür ederim.

Özgür ATEŞ

Kasım 2017

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Özgür ATEŞ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Literatür Özeti	3
1.1.1. Etilen önemi, üretimi, sentezi ve inhibisyonu	3
1.1.2. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler	8
1.1.3. Bitkilerin ACC deaminaz içeren bakteriler ile inokulasyonu.....	13
1.1.3.1. Normal koşullar altında	13
1.1.3.2. Tuz stresi koşulları altında	14
2. MATERYAL ve YÖNTEM	20
2.1. Materyal.....	20
2.1.1. Bakteri izolasyonu için toprak örneklerinin alınması	20
2.1.2. Besiyerleri ve kullanılan solüsyonlar.....	21

2.2. Yöntem	25
2.2.1. Bakteri izolasyonu.....	25
2.2.1.1. Gram boyama	25
2.2.2. Toprak analizleri.....	25
2.2.2.1. Toprak bünye analizi	26
2.2.2.2. Toprak saturasyon analizi	26
2.2.2.3. Toprak pH ve tuz miktarının belirlenmesi.....	26
2.2.2.4. Toprağın kireç kapsamının belirlenmesi.....	26
2.2.2.5. Toprak organik maddesinin belirlenmesi	26
2.2.2.6. Toprakta bitkiye yararılı fosfor miktarının belirlenmesi	26
2.2.2.7 Toprakta bitkiye yararılı potasyum miktarının belirlenmesi	27
2.2.3. Bakteri izolatlarının seçimi	27
2.2.3.1. Buğday tohumlarına bakteri izolatlarının aşılınması	27
2.2.3.2. Petri denemeleri.....	27
2.2.3.3. Kavanoz testleri	28
2.2.4. Bakteri izolatlarının tür tayinleri	28
2.2.5. Bakteri izolatlarının bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinin belirlenmesi	29
2.2.5.1. Azotsuz ortamda gelişim testi.....	29
2.2.5.2. Fosfor çözebilme testi	30
2.2.5.3. İndol asetik asit üretimi	30
2.2.5.4. Siderofor üretimi	30
2.2.5.5. Hidrojen siyanid testleri.....	31

2.2.8.6. Amonyak testleri.....	31
2.2.8.7 ACC deaminaz enzim aktivitesinin belirlenmesi.....	31
2.2.6. Sera denemeleri.....	32
2.2.6.1. Verim	33
2.2.6.2. Biyomas	33
2.2.6.3. Prolin	33
2.2.6.4. Malondialdehit (MDA).....	34
2.2.6.5. Membran stabilite indexi (MSI).....	34
2.2.6.6. Karotenoid miktarı.....	34
2.2.6.7. Toprak alkalın fosfataz aktivitesinin belirlenmesi	35
2.2.6.8. Toprak β -glukosidaz aktivitesinin belirlenmesi.....	35
2.2.6.9. Yaprak element içeriğinin belirlenmesi.....	36
2.2.7. Sonuçların değerlendirilmesi	36
3. BULGULAR.....	37
3.1. Bakteri İzolasyonu Yapılan Toprakların Özellikleri	37
3.2. Bakteri İzolasyonu Tuzlu Ortamda Etkinliklerinin Belirlenmesi.....	38
3.2.1. Petri testleri	38
3.2.3. Kavanoz denemeleri.....	42
3.3. Bakteri İzolatlarını Tür Tayinleri	44
3.4. Bakteri İzolatlarının Bitki Büyümesi Teşvik Edici Özellikleri Belirlenmesi.....	46
3.5. Saksı Denemeleri.....	47
3.5.1. Saksı deneme toprağı ve tuz uygulamaları	48

3.5.2. Verim.....	49
3.5.3. Biyomas	51
3.5.4. Yaprak prolin içeriği	54
3.5.5. Yaprak malondialdehit (MDA) içeriği	57
3.6.6. Membran stabilite indeksi (%MSİ).....	59
3.5.7. Yaprak karotenoid içeriği	62
3.5.8. Yaprak % Sodyum (Na) içeriği	65
3.5.9. Yaprak K / Na oranı	67
3.5.10. Yaprak Ca / Na oranı.....	70
3.5.11. Toprak alkalın fosfataz enzim aktivitesi	72
3.5.12. Toprak β-glukosidaz enzim aktivitesi	75
3.5.13. Buğday yaprak içeriklerinin korelasyon analizleri.....	78
4.TARTIŞMA ve SONUÇ	80
KAYNAKÇA.....	98
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. BBTEB tuz stresi koşullarında etkinlikleri.....	16
Tablo 2.1. Toprak örneklerinin alındığı yerler.....	20
Tablo 2.2. Standart α -ketobutirat hazırlanışı.....	32
Tablo 3.1. Toprak analiz sonuçları.....	37
Tablo 3.2. İzolatların Gram boyama ve petri denemeleri sonuçları.....	39
Tablo 3.3. Kavanoz deneme sonuçları	44
Tablo 3.4. Saksı denemelerinde kullanılan izolatların tür tayin sonuçları.....	46
Tablo 3.5. Bakteri izolatların bitki büyümesini teşvik edici özellikleri.....	46
Tablo 3.6. Saksı toprağı analiz sonuçları	48
Tablo 3.7. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki yetiştirilen buğdayın verim tablosu.....	49
Tablo 3.8. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki yetiştirilen buğdayın biyomas tablosu...	52
Tablo 3.9. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Prolin ($\mu\text{mol/g}$) içeriğı tablosu	54
Tablo 3.10. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MDA (nmol / ml) içeriğı tablosu.....	57
Tablo 3.11. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MSI (%) tablosu	60
Tablo 3.12. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının karotenoid (mg/g) içeriğı tablosu	62
Tablo 3.13. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Na (%) içeriğı tablosu	65
Tablo 3.14. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı tablosu	68

Tablo 3.15. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca/ Na oranı tablosu	70
Tablo 3.16. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enzim miktarı.....	73
Tablo 3.17. Saksı topraklarındaki β -glukosidaz enzim miktarı	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Etilen biyosentezi	4
Şekil 1.2. Mikroorganizmalarda etilen üretimi.....	6
Şekil 1.3.. Stres koşullarında BBTEB etkileri	10
Şekil 1.4. ACC deaminaz enziminin etilen üzerindeki etkisi	11
Sekil 1.5. ACC deaminaz içeren bakteriler ile bitki etkileşimi	12
Şekil 3.1. Petri denemelerinin kurulması.....	38
Şekil 3.2. Petri denemelerinin sonuçları.....	39
Şekil 3.3. Kavanoz testlerinin kuruluşu.....	43
Şekil 3.4. Kavanoz testlerinin görünüşü.....	43
Şekil 3.5 Arthrobacter arilaitensis 18/6	45
Şekil 3.6. Bacillus cereus 10/6,.....	45
Şekil 3.7 Serratia odorifera 11/5.....	45
Şekil 3.8. Lelliottia amnigena 15/1.....	45
Şekil 3.9. Pseudomonas putida 21/4.....	45
Şekil 3.10. Saksı denemelerinin genel görünüşü.....	47
Şekil 3.11 Saksı denemelerinin hasat zamanı genel görünüşü	48
Şekil 3.12. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday verimlerinin % azalış oranları	50
Şekil 3.13. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayın verimleri ile tuz konsantrasyonları ilişkisi.....	51
Şekil 3.14. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday biyomasının % azalış oranları	53

Şekil 3.15. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayın biyomas verimleri ile tuz konsantrasyonları ilişkisi	54
Şekil 3.16. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının prolin içeriği % artış grafiği	55
Şekil 3.17. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan prolin miktarı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi	56
Şekil 3.18. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MDA içeriği % artış grafiği	58
Şekil 3.19. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan MDA miktarı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi	59
Şekil 3.20. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MSI oranlarının % azalış grafiği	61
Şekil 3.21. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında %MSI oranı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi	62
Şekil 3.22. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının karotenoid miktarlarının % azalış grafiği	63
Şekil 3.23. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında karotenoid miktarları ile tuz konsantrasyonları ilişkisi	64
Şekil 3.24. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Na içeriğinin % artış grafiği	66
Şekil 3.25. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Na miktarı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi	67
Şekil 3.26. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı % azalış grafiği	69
Şekil 3.27. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı ile tuz konsantrasyonlarının ilişkisi	70

Şekil 3.28. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca / Na oranı % azalış grafiği.....	72
Şekil 3.29. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca / Na oranı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi.....	72
Şekil 3.30. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enziminin % değişim grafiği	74
Şekil 3.31. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi.....	75
Şekil 3.32. Toprak β -glukosidaz miktarı % azalış grafiği	77
Şekil 3.33. β -glukosidaz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi	78
Şekil 3.34. Yaprak analizleri kolerasyon tablosu	79

KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
β	: Beta
μg	: Mikrogram
μM	: Mikromolar
ha	: Hektar
kg/da	: Kilogram/dekar
kDa	: Kilodalton
K _m	: Michelis-Menten sabiti
C	: Kil
CL	: Kill Tın
SİL	: Siltli Tın
ÖD	: Önemli değil

1.GİRİŞ

Etilen en basit doymamış hidrokarbon yapısına sahip bir bitki büyüme hormonudur. Etilen gaz formunda bir sinyal molekülüdür. Biyolojik olarak aktif olan bu gaz bitkilerde metabolik, fizyolojik ve gelişimsel olayları içine alan geniş bir yelpazede işlev görmektedir. Başlangıçta meyve olgunlaşmasından sorumlu olduğu düşünülen etilen neredeyse bütün büyüme ve gelişme süreçlerinde tohum çimlenmesinden birçok organın ölümüne ve birçok çevresel stres faktörlerine verilen cevaplara kadar oldukça geniş etkilere sahiptir. Bitki fizyolojisinde etilenin etkili olduğu bilinen temel mekanizmalar arasında dormansi kırılması, kök ve fide gelişimi ve farklılaşması, yan kök oluşumu, yaprak ve meyve yaşlanması, bazı bitkilerde çiçek oluşumu ve meyve oluşumunda görev almaktadır (Arshad ve Frankenbelger, 2002). Etilen üretimi miktarı bitkinin büyüme evrelerine ve doğal çevresel süreçlere bağlı olarak artabilir veya azalabilir. Normal koşullar altında bitki bünyesinde üretilen etilen miktarı 10-25 µg/L arasında değişmektedir. Etilen miktarı >25 µg/L seviyesinin üstüne çıktığında kısa kök oluşumu, olgunlaşmamış senesense ve epinasti gibi çeşitli nedenlerle bitki için zararlı olabilmektedir (Holguin ve Glick, 2001). Stres koşulları altında sentezlenen etilen bitki büyümesi ve gelişiminde meydana gelen azalmanın temel nedenidir. Stres koşullarında normal koşulların oldukça üzerinde üretilen bu etilen stres etileni olarak bilinmektedir (Sobeih ve ark. 2004)

Bitki bünyesinde üretilen etilen miktarı biyotik ve abiyotik streslerden etkilenmektedir. Etilen sentezinin düzenlenmesinde, çok çeşitli çevresel sinyaller ve oksin gibberelin gibi birçok hormon yüksek oranda etkili olmaktadır. Etilen konsantrasyonuna biyotik ve kuraklık, tuzluluk, aşırı soğuk, aşırı sıcaklık gibi abiyotik faktörler etki etmektedir (Bleecker ve Kende, 2000).

Bitkilerde etilen üretimi L-metyonin ile başlar. L-metyonin S-adenozilmetyonin (SAM) dönüştürülür ve ACC sentetaz enzimi ile SAM 1-aminosiklopropan-1-karboksilikaside (ACC) dönüşmektedir. ACC daha sonra ACC oksidaz enzimi ile etilene dönüştürülmektedir. Bitkilerde etilen üretim miktarı çok büyük oranda içsel ACC miktarına bağlıdır (Mckee ve Yang, 1982). Etilen üretiminde rol alan ACC sentetaz ve ACC oksidaz enzimlerinin bir çok inhibitörü bilinmektedir. Kobalt (Co) iyonu 10-100 µM konsantrasyonunda uygulandığında ACC sentetaz enzimini inhibe edebilmektedir.

Bitki gelişimini artırmak amacıyla stres koşullarında üretilen etilen miktarının azaltılması konusunda birçok çalışmalar yapılmıştır. Etilenin kimyasal inhibitörlerinin çevre için toksik etkisi olabileceğinden biyolojik yollar ile inhibisyonu araştırılmış ve Bitki Büyümesini Teşvik Eden Bakteriler (BBTEB) gündeme gelmiştir. Toprakta bulunan birçok mikroorganizmada ACC deaminaz enzimi bulunmaktadır. Bazı BBTEB bitki köklerine yerleşerek ACC deaminaz enzimi yardımı ile etilen sentezinde kullanılan ACC'yi amonyak ve α -ketobutirata parçalamaktadır. ACC deaminaz içeren bu bakteriler strese bağlı olarak artan etilen miktarını düşürerek etilenin bitkiler üzerindeki negatif etkilerini azaltmaktadır (Glick ve Penrose, 1997. Safronova ve ark. 2006, Glick, 2003).

Dünyadaki toplam 14 milyar hektar (ha) kara parçasının 6.5 milyar ha alanının kurak ve yarı kurak olduğu ve bunun da yaklaşık 1 milyar ha alanının doğal tuzlu topraklardan oluştuğu belirtilmekte olup, dünya genelinde ekimi yapılan alanların yaklaşık % 20'sinin ve sulanan alanların % 33' nün yüksek tuzluluktan etkilendiği tahmin edilmektedir (Tanji, 1990 Francois ve Maas, 1994). Ayrıca, tuzlu alanlar her yıl % 10 oranında artmaktadır (Tanji, 1990 Kalaji ve Pietkiewica,1993). Dünya'da her dakika içerisinde tarım yapılabilen 10 ha alanın kaybolduğu ve bunun 3 ha alanının tuzluluktan kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Bu yolla her yıl 1.6 milyon ha ekilebilir alanın kaybolduğu belirtilmektedir (Ghassemi ve ark. 1995).

Türkiye'de yapılan çalışmalar sonucunda ülkemizde 1.518.722 ha alanda tuzluluk ve çoraklık sorunu tespit edilmiştir. Türkiye'de toplam çorak alanların %74'ü tuzlu, %25,5'i tuzlu-alkali ve %0,5'i ise alkali topraklardan oluşmaktadır. (Sönmez, 2004).

Tahıllar, dünyanın her yerindeki en önemli bitkilerdir ancak tuzluluk, sürdürülebilir bitkisel üretim için büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Tuzluluk buğdayın büyüme ve tane verimi açısından belirgin bir azalmaya neden olmaktadır (Maas ve Hoffman, 1977).

Bu çalışmada Eskişehir ve çevresinde tuzlu alanlarda yetişen buğday bitkilerinin kök bölgelerinden ACC Deaminaz enzimini içeren bakteri türlerini izole edip tür tanılamalarını yapmak, laboratuvar koşullarında etkinliklerini saptayıp etkin oldukları saptanan bakteri türleri buğday bitkisine aşılansak buğdayın tuza dayanımındaki artışı belirlemek amaçlanmıştır.

1.1. Literatür Özeti

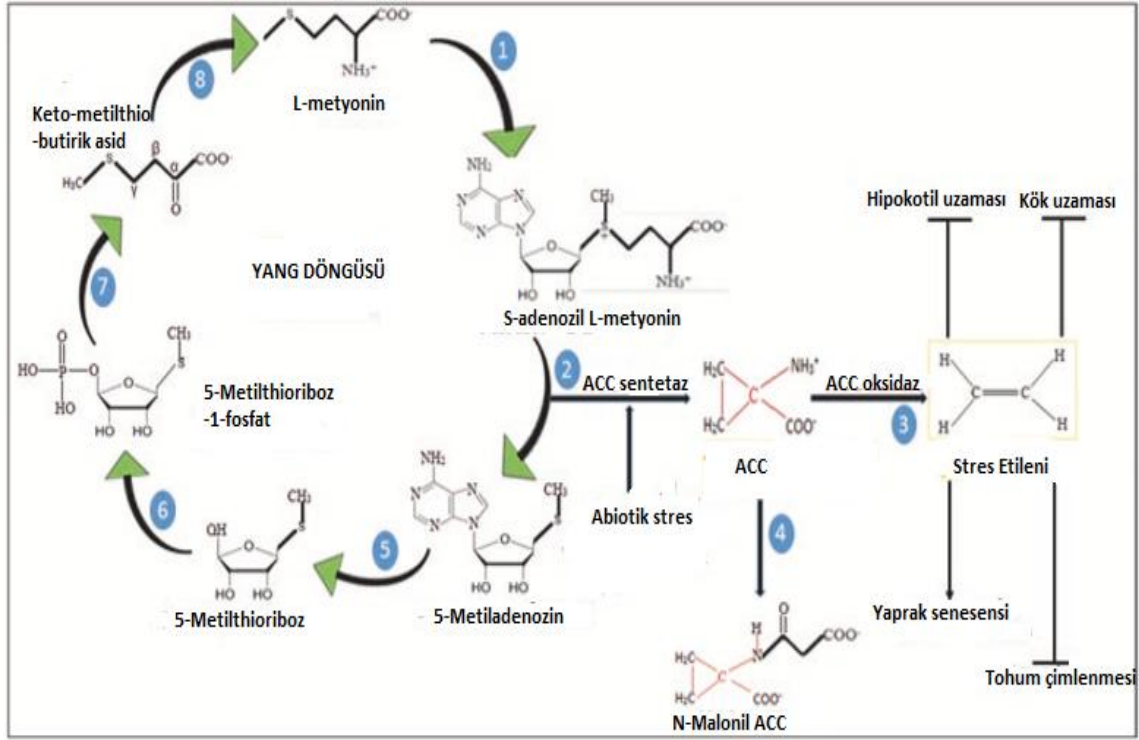
1.1.1. Etilen önemi, üretimi, sentezi ve inhibisyonu

Etilen bitki büyümesi ve gelişmesi üzerinde diğer iyi bilinen bitki hormonları kadar önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle bitki dokularında bulunan etilen seviyesinde meydana gelebilecek herhangi bir değişim, bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde etkili olmaktadır (Arshad ve Frankenberger, 2002). Bazı bitki büyümesini teşvik eden bakteriler bünyelerinde bulundurdıkları 1-aminosiklopropan-1-karboksilik (ACC) deaminaz enzimi sayesinde bitki köklerinde bulunan etilen seviyesinde değişiklik yaparak bitki gelişimine katkıda bulunmaktadırlar (Shaharoon, 2006).

İki karbonlu basit bir yapıya sahip gaz formundaki etilen; hücre bölünmesi, hücre şekli ve hücre farklılaşması üzerinde ciddi etkilere sahip bir bitki hormonudur. Etilen başlangıçta olgunlaşma hormonu olarak kabul edilmiş daha sonra gaz kromatografisi gibi modern cihazlarla yapılan deneyler sonucu etilenin bitki gelişimde önemli rol oynayan hormonlardan biri olduğu gösterilmiştir. Gaz formunda bir hormon olan etilen dormansinin kırılması, çimlenme, kök tüylerinin oluşması, kök ve fide gelişimi ve farklılaşması, yaprak ve meyve absisyonu, çiçekte dişi organ gelişimi, çiçek ve yaprak senesensi ve meyve olgunlaşmasında rol oynamaktadır (Arshad ve Frankenberger, 2002). Düşük düzeylerde etilen bitki büyümesini ve gelişimini teşvik eden bir rol üstlenirken, etilen seviyesinin yükselmesi bitki gelişiminde gözle görülür gerilemelere neden olmaktadır. Bu nedenle etilen hormonunun seviyesinin bitki gelişimi için kritik olduğu belirtilmiştir (Shaharoon, 2006).

Etilenin bitki fizyolojisinde oynadığı rolü anlamak için bu gaz formunda bulunan hormonun nasıl üretildiği ve düzenlendiğini anlamak gerekmektedir. Etilen üretimi dış çevrede meydana gelen değişimler ile çok yakından ilişkilidir. Biyotik ve abiyotik çevrede meydana gelen değişimler sinyaller ile hücreye iletilerek etilen miktarı kontrol edilmektedir. Yüksek bitkilerde etilen üretiminde ana aşama L-metiyonin'den S-adenozil metiyonine (SAM)'nin 1-aminosiklopropan-1-karboksilik (ACC)'nin oluşturulma aşamasıdır. Yapılan çalışmalar L-metiyoninden etilen üretiminin üç ana aşamada meydana geldiğini ortaya koymaktadır. İlk aşamada L-metiyonin, SAM'a metiyonin adenoil transferaz enzimi yardımı ile dönüştürülmektedir. İkinci aşamada SAM ACC sentetaz enzimi ile ACC meydana gelmektedir. Son aşamada ise ACC, ACC Oksidaz enzimi ile etilene dönüştürülmektedir (Mckeon ve Yang, 1982). Yüksek

bitkilerdeki etilen biyosentezi incelendiğinde ACC' nin etilenin sentezinin öncüsü olduğu ve etilen sentezinin ACC'ye bağımlı olduğu görülmektedir. Etilen biyosentezi Şekil 1.1' de gösterilmiştir (Kumari ve ark. 2016).



Şekil 1.1 Etilen biyosentezi (Kumari ve ark. 2006)

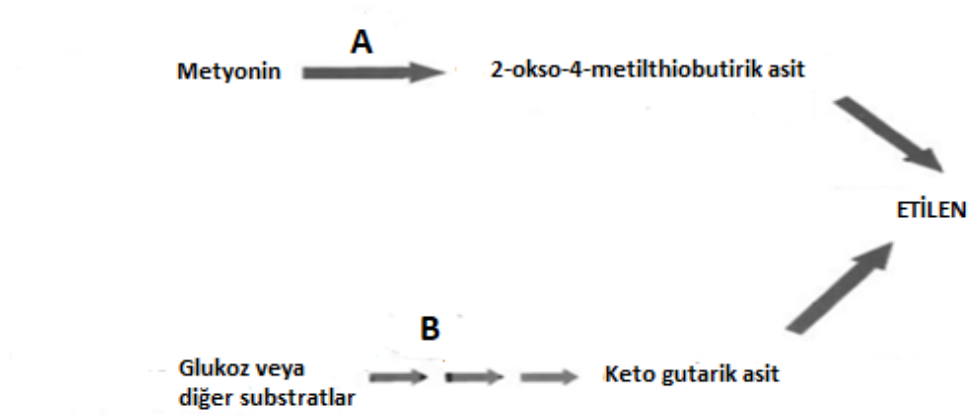
Etilen sentezinde iki anahtar enzim ACC sentetaz ve ACC oksidaz enzimleridir. Bu iki enzimin üretimi bitki dokularının spesifikliğine, gelişimine ve etilen tarafından düzenlenen gelişimlerin sinyal yollarına bağlı olabilir (Kim ve ark. 1997).

ACC sentetaz sitosolik bir enzimdir. Enzimin SAM için Km değeri 13 ile 60 μM arasında değişmektedir (Privalle ve ark. 1987). ACC sentetaz 45-58 kDa moleküler ağırlığa sahip olup ve optimum pH 8,5'te çalışmaktadır (Bleecker ve ark. 1986). Aminoethoksivinilglisin (AVG) ACC sentetaz enziminin inhibitörüdür ve enzimin AVG için Km değeri yaklaşık 10 μM 'dır (Privalle ve ark. 1987). ACC sentetaz enziminin kofaktörü vitamin B6 SAM için yüksek affinite göstermektedir (Van de Poel ve ark. 2014).

ACC oksidaz ACC sentetaz enzimine göre daha çok çalışılmıştır. ACC oksidaz aktivite göstermek için hem oksijene hem de ACC'ye ihtiyaç duymaktadır. Enzimin ACC için Km değeri bitki dokularına göre büyük farklılıklar göstermektedir. Bu değer elma için 8 μM iken buğday yaprağında 120 μM değerine yükselmektedir. Enzimin kofaktörü Fe^{+2} dir (Presscot, 1993). Kobalt iyonları 10-100 μM aralığında olduğunda ACC oksidaz enzimini inhibe ederek ACC'nin etilene dönüşümünü engellemektedir (McKeon ve Yang, 1982).

Etilen sadece yüksek bitkilerde değil aynı zamanda birçok mikroorganizma tarafından da üretilmektedir. Mikroorganizmalar aralarında alkoller, şekerler, organik asitler, metyonin analogları, humik ve fenolik bileşikler ile krebs döngüsü ara ürünlerinin de bulunduğu birçok bileşikten etilen sentezleyebilmektedir (Arshad ve Frankenberger, 2002). Arshad ve Frankenberger (1989) *Escherichia coli* üzerinde yaptıkları çalışmada diğer subsratlara göre L-Metyonin'in *E.coli*'nin en fazla tercih ettiği molekül olduğunu belirlemişlerdir.

Mikroorganizmaların birçok değişik maddeden etilen üretmeleri, mikroorganizmalarda etilen üretiminin birden fazla yolak kullanmasını gerektirmektedir. Her ne kadar mikroorganizmaların etilen üretiminde L-metyonin tercih ettiği gösterilmese de yapılan çalışmalarda mikroorganizmaların L-metyoninden etilen üretiminin bitkilerdeki üretim yolundan tamamen farklı olduğunu ortaya koyulmuştur (Arshad ve Frankenberger, 2002). Yapılan çalışmalarda L-metyoninden etilen üreten hiçbir mikroorganizmanın bu üretim sırasında ACC oluşturduğu saptanamamıştır. *E. coli*, *Candida albida*, *Pseudomonas digitatum* ve benzeri mikroorganizmalar üzerinde yapılan çalışmalar etilen üretiminin L-metyonine bağımlı ve L-metyoninden bağımsız olmak üzere iki ayrı yolla yapıldığını göstermektedir. Metyonin'ne bağımlı yolda metyonine 2-keto-4-metilthiobutirik asit aracılığıyla etilen dönüşmektedir. Metyonine bağımsız yolda ise glukoz α -ketoglutarik asit aracılığıyla etilen dönüşmektedir. Bu iki yol en iyi çalışılmış ve bilinen yollar olmasına rağmen başka yollar da bulunabilir. Bu iki yol Şekil 1.2'de gösterilmiştir (Shaharoona, 2006).



Şekil 1.2 Mikroorganizmalarda etilen üretimi

A: L-Metyonin'ne bağımlı

B: L-Metyonin'den bağımsız etilen üretimi (Shaharoona 2006)

Etilenin hücre gelişimi ve farklılaşmasındaki rollerinin yanında stres hormonu olarak da bilinmektedir. Çevrede meydana gelen kuraklık, aşırı sıcak, yüksek ağır metal konsantrasyonu, böcek zararı gibi çevresel streslere bağlı olarak etilen miktarı artmaktadır. Örneğin bitki su sıkıntısı ile karşı karşıya kaldığı zaman etilen sentezinde artış olur. Bu artışın sonucu olarak bitki köklerinde ve fide büyümesinde azalma, erken yaprak dökümü ve absisyon gibi etkiler görülmektedir (Sharp, 2002). Su stresine bağlı olarak oluşan etilen miktarındaki artış aynı zamanda bitki pigment içeriğinde değişime, yaprak kuru ağırlığı ve hücre zarı bütünlüğünde azalmaya neden olmaktadır (Balota ve ark 2004). Son çalışmalar bitki hormonu olan absisik asidin (ABA) su stresi durumunda bitkinin vereceği tepkiyi etilen miktarını kontrol ederek belirlediğini göstermektedir. Su stresi altında artan ABA miktarının bitki dokularında etilen miktarının aşırı artışını engellediğini ortaya koymaktadır (Sharp, 2002).

Etilen sentezinin bitki dokularında yaralanma durumunda arttığı bilinmektedir (Watanabe ve ark. 2001). Pirinç, buğday, mısır, soya gibi birçok bitkide tuzlu koşullarda tohum çimlenmesi sırasında etilen sentezinin normal koşullara göre oldukça arttığı saptanmıştır (Lutts ve ark. 1996, Datta ve ark. 1998).

Çevresel streslere ek olarak etilenin baklagillerde nodül oluşumunu engellediği saptanmıştır. Genel olarak baklagil bitkilerine dıştan etilen uygulamalarının nodül oluşumu üzerine olumsuz etkileri gözlenmiştir. Gobbelaar ve ark. (1971) yaptıkları araştırmada fasülye bitkisine düşük dozlarda etilen uyguladıklarında nodül oluşumunun

gerilediğini, etilen miktarının artırılması durumunda ise nodül oluşumunun tamamen ortadan kalktığını belirlemişlerdir. Bezelyede yapılan bir çalışmada nodül oluşumun engellenmesinin nedeninin etilen miktarındaki artışa bağlı olarak bitki kök gelişiminin durmasının olabileceği ileri sürülmektedir (Arshad ve Frankenberger, 1995). Son zamanlarda yapılan birçok araştırma dışsal kaynaklı etilen üretiminin azaltılmasının bitkilerde nodül oluşumunu teşvik ettiğini göstermiştir (Shaharoon, 2006). Zaat ve ark. (1989) bezelye bitkisinde yaptıkları çalışmada ortamda aminoethoksivinilglisin (AVG) bulunduğu durumda bulunmadığı duruma oranla nodül oluşumunun ciddi oranda arttığını saptamışlardır.

Bitki köklerinde bulunan etilen miktarının toprakta bulunan nitrat iyonlarıyla ilişkili olduğu, nitrat iyonlarının etilen sentezini artırdığı belirlenmiştir. Lege ve ark. (1997) yaptıkları çalışmada bitki besleme çalışmaları sırasında uygulanan N miktarına bağlı olarak etilen miktarının arttığını saptamışlardır. Kök bölgesinde nitrat miktarının artmasının ACC oksidaz enzimini stimüle ettiği ve dolayısıyla da etilen miktarını arttırdığı saptanmıştır (Ligero ve ark. 1999). 10 mM/L nitrat uygulamasının bitki köklerinde nodülasyonu engellediği ve etilen miktarını arttırdığı belirlenmiştir (Caba ve ark. 1998).

Etilen miktarı, biyosentezinde rol oynayan ACC sentetaz ve ACC oksidaz enzimlerinin inhibisyonu ile azaltılabilir. AVG, ACC sentetaz enzimini inhibe ederken kobalt iyonları ACC oksidaz enzimini inhibe etmektedir. Etilen miktarının biyolojik yolla azaltılmasında ACC deaminaz etkilidir. ACC oksidaz enziminin tersinde ACC deaminaz (E.C 4.1.99.4) ACC'yi parçalayarak amonyak (NH₃) ve α -ketobutirat oluşturmaktadır (Glick ve Penrose, 1997). Bu enzim sadece azot yerine ACC kullanılan minimal glikoz besiyerinde gelişebilen mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Bu enzim ilk kez *Pseudomonas* cinsinden izole edilmiştir (Honna ve Shimomura, 1978). ACC deaminaz enzimi keşfedildikten sonra birçok toprak kökenli bakteri, fungus, ve mayada bulunmuş ancak şimdiye kadar bitkilerde saptanamamıştır (Glick ve ark. 1999). ACC deaminazı kodlayan genler aralarında *Pseudomonas* sp. strain ACP (Sheehy ve ark. 1991), *P. chloroaphis* 6G5 *P. fluorescens* strain TDK1 (Saravanakumar, 2007), ve *Enterobacter cloacae* UW4 (Glick ve ark. 1998) gibi birçok bakteriden izole edilmiştir. Bakteriyel genlerin amino asit dizileri, her biri açık okuma çerçevesi içeren yüksek

derecede homologdur ve 338 amino asit kodlarlar ayrıca moleküler ağırlıkları 36,500 ile 41,800 dalton (Da) arasında değişmektedir (Jacobson ve ark. 1994).

ACC deaminaz enzimi birçok mikroorganizmadan izole edilmiş ve saflaştırılmıştır. Bu enzimin benzer molekül ağırlık ve yapıda olduğu gösterilmiştir (Glick ve Penrose, 1997. Karthikeyan ve ark 2004). Enzimin moleküler ağırlığının 104-120 kDa aralığında olduğu tahmin edilirken *P. putida* GR12-2 den izole edilen enzimin ise 105 kDa ağırlığında olduğu tespit edilmiştir (Glick ve Penrose, 1997).

ACC deaminaz enzimi ACC' ye karşı düşük affanite göstermektedir. Çeşitli mikroorganizmalardan elde edilen ACC deaminaz enziminin ACC' ye karşı Km değerinin 1,5 ile 15 mM arasında değiştiği ve en uygun pH değerinin 8,5 olduğu saptanmıştır (Glick ve ark. 2007). Enzim sadece bakterilerde bulunmamaktadır. Bir maya olan *Hanselnula starnus*' tan izole edilen ACC deaminaz enzimi *Pseudomonas*'tan izole edilen ACC deaminaz enzimi ile % 60-63 amino asit benzerliği taşımaktadır (Minami ve ark. 1998). ACC deaminaz enzimi B vitamini kofaktör olarak kullanan enzim ailelerine dahildir ve 100 nM ACC bulunmasının ACC deaminaz üretimini tetiklemek için yeterli olduğu saptanmıştır (Jacobson ve ark. 1994).

1.1.2. Bitki büyümesini teşvik eden bakteriler

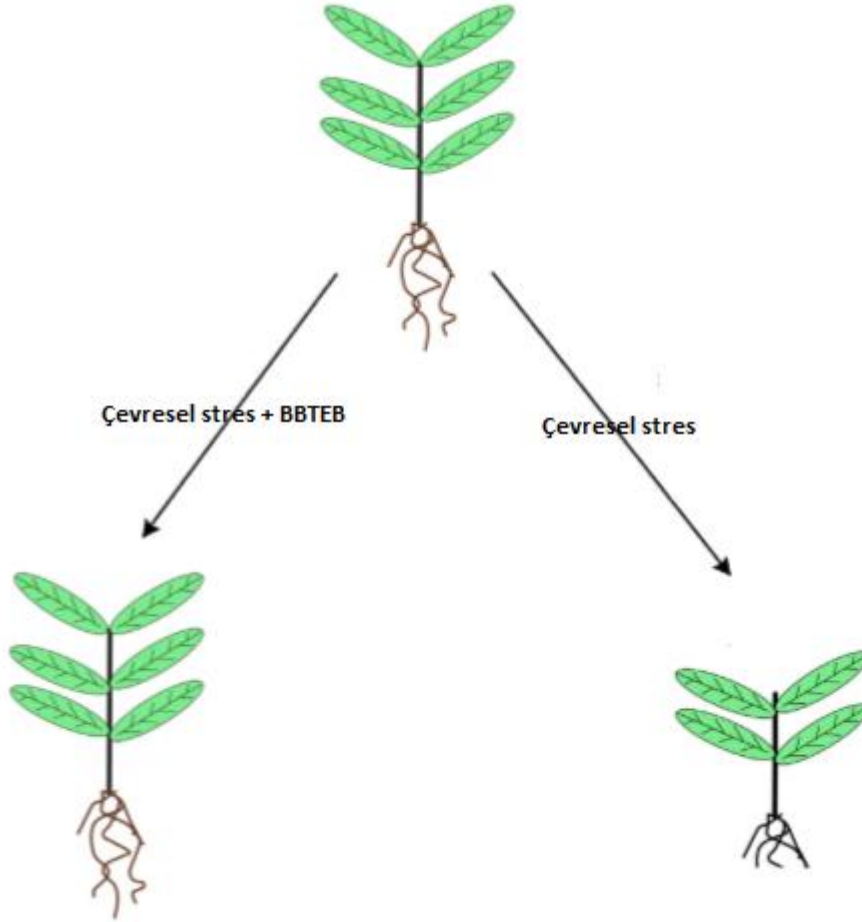
Toprak, mikroorganizmalar ve onların metabolik aktiviteleri için en önemli habitatlardan biridir. Bitki köklerinin bulunduğu bölgede büyük miktarda mikrobiyal popülasyon metabolik aktivitede bulunmaktadır. Toprakta bulunan bu mikroorganizmaların çok yoğun olarak bulundukları kök bölgelerine kök rizosferi adı verilmektedir (Chakraborty, 2015). Kök rizosfer bölgesinde bulunan bakterilerden bazıları bitki gelişimini çeşitli yollarla artırmaktadır. Bu bakterilere genel olarak bitki büyümesini teşvik eden bakteriler adı verilmektedir (BBTEB). Bu bakteriler bitki gelişimini ve dolayısıyla da ürün verimini doğrudan veya dolaylı yollarla etkilemektedir. Dolaylı yoldan BBTEB, bitki patojenlerinin sayısını oluşturdıkları metabolik ürünler ile azaltarak veya bitki direncini artırarak sağlamaktadır (Cartieaux ve ark. 2003). Mikroorganizmalar dolaylı etkilerini antibiyotik üreterek, rizosferde demir sıkıntısı yaratarak, antifungal metabolitler üreterek, fungus hücre duvarlarını parçalayan enzimler üreterek ve bitkilerde sistematik direnci artırarak yapmaktadırlar. Mikroorganizmaların direkt etkileri arasında azot fiksasyonu, fosfor çözünürlüğü,

antibiyotik üretimi, bitki büyüme hormonu üretimi, siderefor üretimi, organik asit üretimi ve etilen miktarının azaltılması gibi etkiler sayılabilir (Glick ve ark. 1999). ACC deaminaz enzimi içeren bakteriler bitki kök rizosferinde bulunan diğer mikroorganizmalara göre daha avantajlı olabilirler çünkü ACC'yi parçalayarak oluşan ürünleri azot ve karbon kaynağı olarak kullanabilirler (Glick ve ark. 2007).

Bitki gelişmesini teşvik edici bakteriler genel olarak *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Aereobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Artrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine aittir (Çakmakçı, 2005. 2014). Son yıllarda bitkisel gelişmeyi teşvik edici ve artırıcı bakterilere ilave olarak bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* gibi fungusların biyolojik gübre olarak kullanımı üzerine de yoğun araştırmalar yürütülmekte ve olumlu sonuçlar alınmaktadır. Ancak, bugüne kadar yürütülen araştırmalarda özellikle *Azotobacter*, *Acelobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Bacillus* ve *Paenibacillus* cinslerine ait türlerin bitki büyümesini teşvik edici bakteriler olarak öne çıktığı görülmektedir (Çakmakçı, 2014).

Glick ve ark. (1998) sayılan mekanizmalar arasında bitki gelişimi açısından en önemli olan mekanizmanın etilen miktarının azaltılması olduğunu belirtmiştir. Pierik ve ark. (2006) bitki strese maruz kaldığında oluşan etilenin etkilerini açıklamak için bir model önermişlerdir. Bu modele göre stres durumunda etilen üretiminde 2 adet pik meydana gelmektedir. Etilen seviyesinde oluşan ilk pik genellikle küçüktür ve stresin başlamasından birkaç saat içinde oluşmaktadır. Bu pik ile bitki strese karşı koruyucu cevaplarını oluşturmaya başlamaktadır. İkinci pik birincisinden çok daha büyüktür ve senesens, kloroz, bitki gelişiminin yavaşlaması gibi tepkilere yol açar ve genellikle 1-3 gün arasında oluşmaktadır. Seçici olarak ikinci pikin azaltılması bitki gelişiminin artırılmasında rol oynar. Penrose ve ark. (2001) ACC deaminaz içeren bakterilerin bitkilerde bulunması durumunda bitki köklerinde bulunan ACC miktarının azaldığını belirtmişlerdir. ACC deaminaz içeren bakteriler ACC miktarını düşürerek etilen seviyesinde azalma meydana getirmelerinin yanında bitki köklerinde ve gövdelerinde strese bağlı oluşabilecek negatif etkileri azaltmaktadırlar. Stres koşullarında bitki gelişimi azalmaktadır. ACC deaminaz içeren bakterilerin kullanılması ile stres

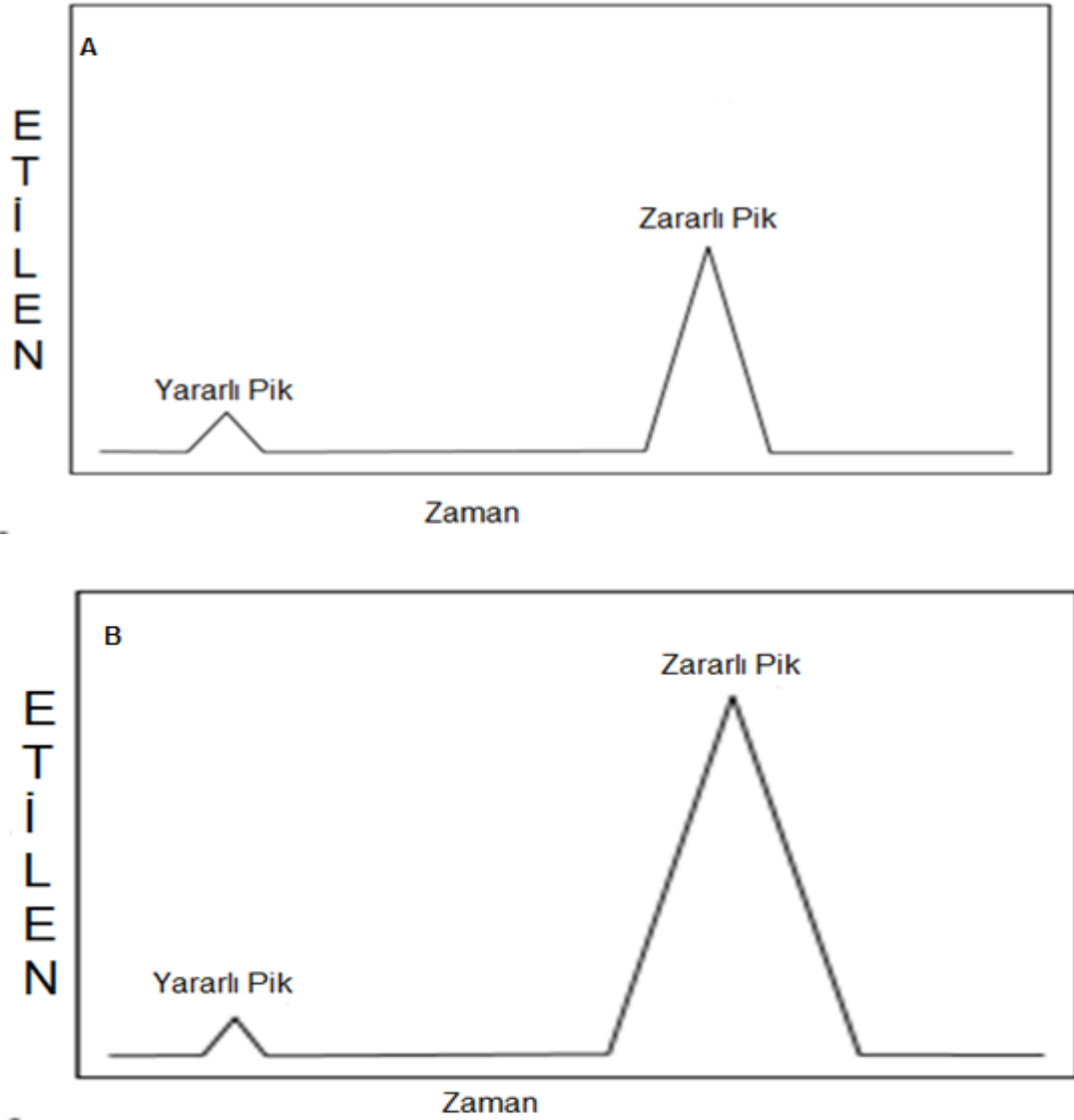
koşullarına göre bitki gelişimi artmaktadır. ACC deaminaz içeren bakterilerin stres durumundaki etkileri Şekil1.3’de gösterilmiştir (Glick, 2013).



Şekil 1.3. Stres koşullarında BBTEB etkileri (Glick 2013)

ACC deaminaz bakterilerde genellikle uyarılncaya kadar düşük seviyelerde bulunur ve enzimin uyarılması yavaş ve karmaşık bir süreçtir. Bitki bünyesinde stres koşullarında ACC miktarında artış meydana gelir ve bu artış bitkileri için koruyucu olarak değerlendirilen birinci etilen pikini meydana getirir. Bitki bünyesinde meydana gelen bu artış bitki kök bölgesinde bulunan bakterilerdeki ACC deaminaz enziminin uyarılmasını sağlar. Böylece bitki bünyesinde meydana gelen ikinci pik ACC deaminaz enzimi yardımı ile hafifletilebilir. Ancak ACC oksidaz enziminin Km değeri ACC deaminaz enziminin Km değerinden daha düşük olduğunda ikinci pikin tamamen

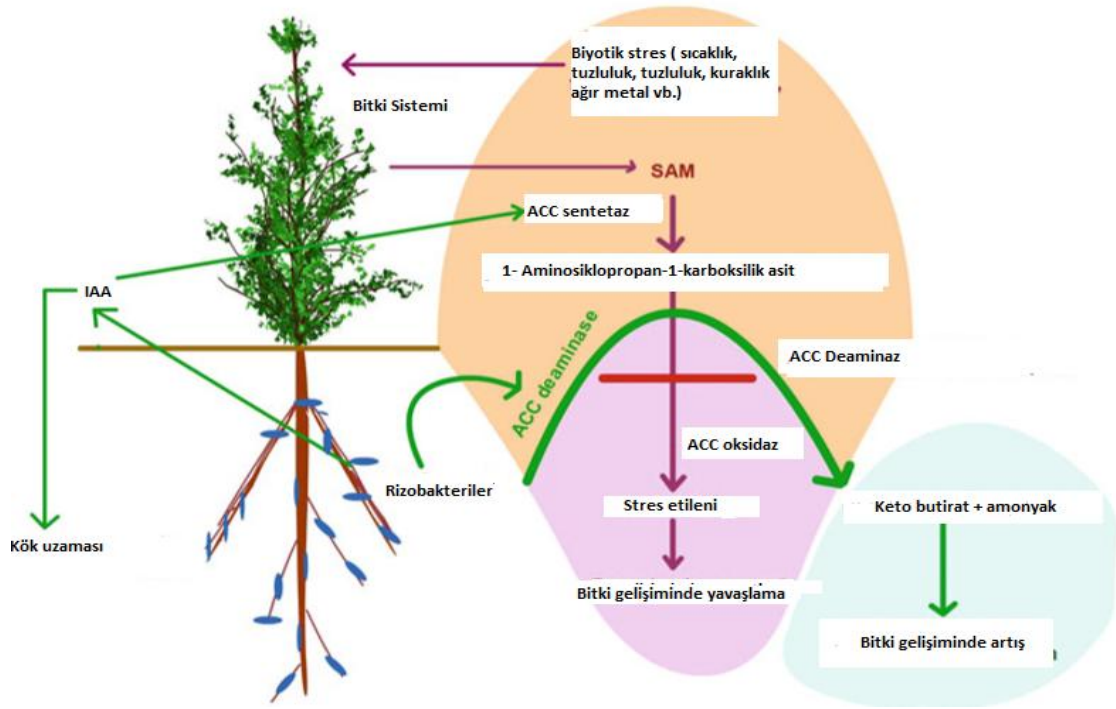
ortadan kaldırılması söz konusu olamaz (Van Loon ve Glick, 2004). Etilen seviyesinin ACC deaminaz varlığında ve yokluğundaki değişiklikler Şekil 1.4 A ve B’de gösterilmiştir.



Şekil 1.4. ACC deaminaz enziminin etilen üzerindeki etkisi,
A: ACC deaminaz enziminin varlığında
B: ACC deaminaz enziminin yokluğunda (Van Loon ve Glick, 2004).

Glick ve ark. 1990’lardan beri ACC deaminaz enzimi üzerinde çalışmaktadırlar ve onların önerdiği modele göre bitki büyümesini teşvik eden bakteriler tohumların yüzeyine tutunmakta ve çimlenme sırasında tohumlardan salınan triptofan ve diğer aminoasitleri kullanarak indol asetik asit (IAA) sentezlemektedirler (Glick ve ark.

1998). Hücre dışından oluşturulan IAA yardımı ile hücre farklılaşması ve kök uzaması hızlandığı ve aynı zamanda hücre içinde ACC konsantrasyonunun arttığı saptanmıştır (Yang ve Hoffman, 1984). Stres koşullarında ACC deaminaz içeren BBTEB ile bitki etkileşiminin şematik gösterimi Şekil 1,5’ de sunulmuştur.



Sekil 1.5. ACC deaminaz içeren bakteriler ile bitki etkileşimi (Maheshwari,2011)

Bitkiler kuraklık, sıcaklık, tuzluluk, hava kirliliği, ağır metaller, zirai ilaçlar ve toprak pH gibi çeşitli çevresel streslere sürekli maruz kaldığında verimlilikleri azalmaktadır (Mayak ve ark. 2004). Bu bağlamda dirençli tahıl çeşitlerinin gelişimi için birkaç yıldan beri stresi ön plana alan ıslah çalışmaları yapılmaktadır. Bununla birlikte, bir ürün çeşidinin ıslahından sonra direncin dağılması ve dirençli çeşitlerin geliştirilmesi sırasında çok yoğun bir emek ve zaman harcanmaktadır. Daha genel bir strateji, çeşitli abiyotik stres etkilerinin iyileştirilmesi için ACC deaminaz içeren bitki büyümesini destekleyici veya biyo-kontrol bakterileri ile bitki tohumlarının veya köklerinin aşılmasını içerebilmektedir. Böylece, bitkileri çeşitli abiyotik streslere karşı koruyan bir rizobakteri seçimi yapılarak bunlarla tohumlar kaplanmakta ve stres koşullarında daha verimli ve kaliteli ürün alınabilmektedir (Saravanakumar, 2012).

1.1.3. Bitkilerin ACC deaminaz içeren bakteriler ile inokulasyonu

1.1.3.1. Normal koşullar altında

Glick ve ark. (1997) ACC deaminaz içeren *P. putida* GR2 bakterisi mutasyona uğratılarak ACC deaminaz içermeyen mutantını elde etmişlerdir. Glick ve ark. (1997) mutant bakteri ile normal bakteriyi kanola tohumlarına aşılayarak tohumları normal ve tuz stresi koşullarında yetiştirmişler ve fide, kök uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık, fidede klorofil ve protein içeriği üzerine etkilerini incelemişlerdir. Normal ve tuz stresi koşullarında mutant olmayan bakteri kök büyümesini sağlarken, mutant bakterinin tuz stresi koşullarında herhangi bir etkisi olmamıştır. Benzer şekilde mutant olmayan bakteri fide gelişimini artırmıştır.

Mayak ve ark. (1999) normal ve mutant tip *P. putida* GR2 bakterilerinin kök üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla fasulye kullanarak bir deney yapmışlardır. Deneyde fasulye tohumları mutant ve mutant olmayan bakteriler ile aşılanarak fasulyelerde kök oluşumuna kadar beklenmiş ve yan kök oluşumu, kök uzunluğu ve köklerde etilen miktarı belirlenmiştir. Araştırma sonucunda mutant olmayan bakteriler ile aşılanan fasulyelerde daha fazla yan kök oluşumu ve daha az oranda etilen konsantrasyonu belirlenmiştir. Araştırmacılar etilen miktarındaki artışın kök gelişimini engellediğini bildirmişlerdir.

Holguin ve Glick (2000) yaptıkları çalışmada *Enterobacter cloacae* UW4 bakterisinden ACC deaminaz genlerini *Azospirillum brasilence*'se aktarmış ve daha sonra domates tohumlarını *A. brasilence* ile aşılanmıştır. Saksı denemeleri sonucunda ACC deaminaz enzimini taşıyan *A. brasilence* ile aşılanan domates bitkisinin köklerinin ACC deaminaz içermeyen *A. brasilence* ile aşılanan bitkiye göre daha uzun ve bitki kuru ağırlığının ise daha fazla olduğunu saptamışlardır. Benzer sonuçlar Qiaosi ve ark. (2005) tarafından karanfil köklerinde yapılan çalışmada da bulunmuştur. Araştırmacılar ACC deaminaz geni içeren ve içermeyen *A. brasilence* bakterilerini karanfil köklerine aşılayarak kök gelişimini incelemiş ve ACC deaminaz enzimi içeren *A. brasilence* ile aşılanan karanfillerin köklerinin daha uzun ve sayıca daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Belimov ve ark. (2002) üzüm fidelerini ACC deaminaz içeren *P. putida* AM2, *P. putida* Bm3, *Alcaligenes xylosoxidans* Cm4 ve *Pseudomonas* sp. DP2 bakterileri ile aşılayarak torbalarda farklı fosfor uygulamaları yaparak denemişlerdir. Araştırmacılar

fosfor uygulanan torbalarda bakteri uygulamalarının kök uzunluğunu önemli oranda artırdığını ancak fosfor eksikliği bulunan torbalarda ise bakteri uygulamalarının herhangi bir olumlu veya olumsuz etkisinin gözlenmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar bu araştırma sonucunda ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik eden bakterilerin etkinliğinin bitkinin içinde bulunduğu ortamın bitki besin maddesi içeriğinden etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Ghosh ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada ilk defa ACC deaminaz içeren üç adet *Bacillus circulans*, *Bacillus firmus*, *Bacillus globisposus* izolatu ile kanola tohumları aşılanmış ve aynı zamanda bakterileri toprağa uygulamış ve kök uzunluğu ile fide uzunluğunu incelemişlerdir. Araştırma sonucunda bakteri uygulamalarının kök uzunluğu, kök yaş ve kuru ağırlığı üzerinde önemli etkileri olduğunu toprağa bakteri uygulamalarının ise fide boyunu önemli ölçüde artırdığını belirtmişlerdir.

Dey ve ark. (2004) ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteri uygulamalarının yer fıstığında verim ve bitki besin maddesi içeriğine etkilerini saptamak amacıyla saksı ve tarla denemeleri kurmuşlardır. Üç yıllık tarla denemeleri sonucunda ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin bitki gelişimini artırdığı, bitki kök uzunluğu ve toplam kök hacmini artırdığı, verimde önemli bir artışa neden olduğunu saptamışlardır.

1.1.3.2. Tuz stresi koşulları altında

Abiyotik çevresel stres faktörleri arasında, tuzluluk tarımsal sürdürülebilirlik için büyük tehditlerden biridir ve bu durum dünya çapında yaklaşık 1 milyar ha' dan fazla hektarlık araziye olumsuz şekilde etkilemektedir (Tester ve Munns, 2008).

Genel olarak bitkilerde tuzluluk problemi, çözülebilir tuzun aşırı miktarda bitki yetiştirme ortamında bulunması ile bitkinin normal gelişim fonksiyonlarının engellenmesi olarak tanımlanabilmektedir (Ashraf ve Harris, 2005). Bütün bitkiler yüksek tuz konsantrasyonunda ölebilir. Doygunluk çamuru süzüğünde 25°C'de ölçülen elektriksel iletkenliğe (EC) (dS/m) göre toprak tuzluluğu sınıflandırılmıştır. Buna göre EC'si 0-4 dS/m arasındaki topraklar 'tuzsuz', 4-8 dS/m olan topraklar 'az tuzlu', 8-16 dS/m arasındakiler 'orta tuzlu' ve 16 dS/m'den fazla değerde bulunanlar ise 'çok tuzlu' olarak nitelendirilmektedir (Dinç ve Senol, 1997).

Bitkilerin geliştiği ortamların tuz bakımından sorunlu olması bitkiler açısından birçok olumsuz etkinin oluşmasına neden olmaktadır. Bu olumsuzluklardan başlıcaları; besinve su alımında dengesizlikler, membran zararlanması, metabolik süreçlerde aksamalar ve osmotik uyumsuzluklardır (Orcutt ve Nilsen, 1996. Yakıt ve Tuna, 2006). Bu olumsuzlukların yanında reaktif oksijen türleri, ozmotik şok, iyonik toksisite, stomatal kapanma ve yaprak genleşmesinin azalması vb. nedenlerle zararlara neden olmaktadır (James ve ark. 2011).

Tuz stresi, dış ortamda suyun ozmotik basıncını artırıp, transpirasyonu azaltarak bitkide su rejimini etkileyip bitki gelişmesini engellerken diğerk taraftan bitki tarafından absorbe edilen iyonların kompozisyonunda farklılık yaratarak beslenme bozuklukları meyvelerde fizyolojik bozukluklar (çiçek dibi çürüklüğü, acı benek, öz çürüklüğü gibi) yaratmaktadır. Ayrıca bitkilerde bazı fizyolojik parametreler ile enzimler (prolin birikimi, membran stabilitesi, peroksidaz, katalaz, lipid peroksidasyonu) üzerine de etki yapmaktadır (İnal ve ark. 2006).

Tuz stresi bitkilerde kök gelişiminin engellenmesine ve bodur büyümeye neden olmaktadır. Bitkiler tuz stresi ile karşılaştıklarında toprak üstü aksamalarında büyümede gerileme ve tomurcuk oluşumunda azalma görölmektedir. Aşırı tuz stresi sonucunda köklerde, yaprak kenarlarında ve büyüme uçlarında nekrozlar (sarı lekeler) oluşmaktadır. Büyümesi tamamlanmadan erken dönemde yapraklarda sararmalar ve kurumalar görölmekte ve son aşamada ise bitkinin tamamı kurumaktadır (Larcher, 1995).

Bitkilerde strese neden olan tuzluluğun kaynağı farklı olabilmektedir. Bunlar arasında gereksiz ve aşırı sulama, taban suyunun yüksek olması, deniz suyunun sulama suyuna karışması ve drenajın yetersiz olması gibi nedenler sayılabilmektedir (Daşgan, 2008).

Yapılan tahminlere göre önümüzdeki 75 yıl içinde dünyada tarım yapılan arazilerin sadece % 10 artabileceğı düşünölmektedir. Bu süre zarfında dünya nüfusunun iki katına çıkması beklenmektedir. Bu artışın büyük bölümünün tuzluluk sorununun yaygın olarak göröldüğü yarı kurak ve kurak bölgelerde görölmesi durumunda tuzluluk sorunun önemi daha da belirginleşmektedir (Sönmez, 2011).

Bitkiler abiotik streslerle karşı karşıya kaldıklarında verdikleri fizyolojik tepkinin etilen miktarını arttırmak olduğu saptanmıştır. Etilen sentezinin artması, besin alımının azalması, hormonal düzensizlik gibi belirtiler gösterir. Stres koşullarında etilen miktarının artması bitki gelişimindeki bozulmanın ana nedenidir (Maheshvari, 2012).

Stres koşullarında bitkide ACC miktarının arttığı ve buna bağlı olarak etilen miktarının arttığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Glick ve ark. 1997, Mayak ve ark. 2004, Saravanakumar, 2012). ACC deaminaz enziminin etilen miktarının azalttığından keşfinden sonra birçok araştırmacı tohumlara ACC deaminaz enzimi içeren bakterileri kullanarak stres koşullarında etkinliklerini belirlemişlerdir (Shaharoon, 2006).

ACC deaminaz içeren bakteriler bitki kök rizosferinde normal toprakta bulunduklarından çok daha fazla bulunmaktadır. Bitki köklerinden salgılanan çeşitli moleküller ile beslenmektedirler. ACC deaminaz içeren bakterilerin tuz stresi koşulları altında yetiştirilen bitkilerdeki etkileri Tablo 1.1 'de sunulmuştur.

Tablo 1.1. *BBTEB tuz stresi koşullarında etkinlikleri*

BBTEB	Bitki	Stres Tipi	Araştırma Sonucu	Referans
<i>Pseudomonas</i> spp	Buğday	Tuz	Toksik iyon alımında azalma	Hasnain ve Sabri, 1996
<i>Achromobacter piechaudii</i> ARV8	Domates	Tuz	Bitki fidelerinin gelişiminde artış	Mayak ve ark. 2004
<i>Pseudomonas syringae</i> S5, <i>P. fluorescens</i> S20 <i>Enterobacter aerogenes</i> S14	Mısır	Tuz	Birki boyunda ve kök uzunluğunda artış, düşük prolin miktarı, yüksek K /Na oranı	Naadem ve ark. 2007
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TD	Yerfıstığı	Tuz	Bitki gelişiminde ve verimde artış	Saravanakumar ve Samiyappan, 2006
<i>Pseudomonas putida</i> N21 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> N39 <i>Serratia proteamaculans</i> M3	Buğday	Tuz	Bitki boyu ve kök uzunluğunda ile yaprak klorofil içeriğinde artış	Zahir ve ark. 2009
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i> , <i>Bacillus pumilus</i>	Pirinç	Tuz	Kök gelişiminde artış	Jha ve ark. 2011
<i>Pseudomonas</i> spp. Ve <i>Rhizobium</i> spp.	Mercimek	Tuz	Nodül sayısında artış	Igbal ve ark. 2012
<i>P. koraiensis</i>	Soya	Tuz	Soyanın tuza dayanıklılığında artış	Kasotia ve ark. 2015

Mayek ve ark. (2004) domateste tuzlu koşullar altında bitki gelişimini ve ürün verimi artırmak için ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda ACC deaminaz içeren *Achromobacter piechaudii* bakterisi ile aşılamanın domates fidelerinin 172 mM NaCl içeren ortamda kontrole göre yaş ve kuru ağırlığının önemli oranda arttığı belirlenmiştir ayrıca bakteri ile aşılamanın bitki fosfor ve potasyum miktarına etki ettiği ve bitkinin su kullanım randımanının arttığı saptanmıştır. Benzer şekilde Chookietwattana ve ark. (2012) ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerinden *Bacillus licheniformis* etkinliğini saptamak için 0, 30, 60, 90 ve 120 mM NaCl içeren ortamda domates yetiştirmişlerdir. Araştırma sonucunda özellikle tuz oranının 30- 90 mM NaCl olduğu ortamlarda bakteri aşılamanın çimlenme oranı, çimlenme indeksi, kök uzunluğu, fide yaş ve kuru ağırlığı üzerinde önemli etkileri olduğu saptanmıştır.

Saravanakumar ve samiyappan (2006) yer fıstığında yaptıkları çalışmada ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin tuzlu koşullarda yer fıstığının verim ve büyüme parametreleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırma da *P. fluorescens* ile aşılamanın hem saksı denemeleri hem de tarla denemelerinde tuzlu koşullarda bitki verimi, bitki boyu, bitki kök uzunluğu ve 100 dane ağırlığı üzerinde önemli etkileri olduğunu saptamışlardır.

Cheng ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada *Pseudomonas putida* UW4'nın ACC deaminaz içeren orijinal formu ile mutasyonla ACC deaminaz içermeyen mutant formunun etkinliğini kanola bitkisinde test etmişleridir. Araştırmacılar *Pseudomonas putida* bakterisinin orijinal formu ile mutant *P. putida* kanola tohumlarına aşılama ve tohumları tuz içeren ortamda (150 mM /L ve 1 mol/L NaCl) geliştirmişlerdir. Araştırma sonucunda her iki tuz dozunda da *P. putida* UW4'nın ACC deaminaz içeren suşları ile aşılamanın bitkilerin mutant *P. putida* UW4 ile aşılamanlara göre önemli oranda gelişme gösterdiği bildirilmiştir.

Nadeem ve ark. (2007) tuzlu alanlardan ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterileri izole ederek etkinliklerini saksılarda test etmişlerdir. Araştırmada 4 ayrı tuz seviyesinde (1, 4, 8, 12 dS/m) mısır tohumlarını ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteriler ile aşılamanın saksılara ekilmiş ve gelişimleri incelenmiştir. Araştırma sonucunda artan tuz dozlarına bağlı olarak mısır gelişimin

gerilediği ancak bakteri ile aşılamamanın bitki kuru ağırlığı, kök uzunluğu, toplam bitki biyomasi ve verimde önemli oranda artışa neden olduğu saptanmıştır. Mısır tohumlarının ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteriler ile aşılamamanın K^+/Na^+ oranına, yaprak oransal su içeriği, klorofil ve prolin oranı üzerine olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir.

Zahir ve ark. (2009) tuzlu koşullarda 3 adet ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterinin buğdayda etkinliğini belirlemek amacıyla saksı denemeleri kurmuşlardır. ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteriler olarak *P. putida* (N21), *P. aeruginosa* (N39) ve *Serratia proteamaculans* (M35), tuz dozları olarak 1,63, 5, 10 ve 15 dS/m NaCl kullanılmıştır. Araştırma sonucunda buğday tohumlarını bakteri ile aşılamamanın yüksek tuz dozlarında bile bitki gelişimini artırdığı belirlenmiştir. Araştırma kullanılan bakteriler içinde *P. putida* (N21) izolatının kontrol ve araştırmada kullanılan diğer bakterilere göre bitki boyu, kök uzunluğu, 100 dane ağırlığı ve dane veriminde önemli oranda farklılık yarattığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Nadeem ve ark (2007) 18 adet ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterinin etkinliğini buğday kullanarak kavanoz testleri ile belirlemiş ve etkin buldukları ile saksı denemeleri kurmuşlardır. Tuz dozları olarak 1,46, 5, 10 ve 15 dS/m dozlarını kullanmış ve araştırma sonucunda ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterinin tüm tuz dozlarında bitki gelişimini artırdığını saptamışlardır. Araştırmacılar en yüksek tuz dozunda bile bitki boyu, kök uzunluğu, 100 dane ağırlığı ve dane veriminde bakteri ile aşılamamanın %36 ile %118 arasında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Siddikee ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada tuz stresi koşullarında biber gelişimini incelemiş ve ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin kullanımının etkilerini belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmada tuz stresi altında biberde etilen, ACC ve ACC oksidaz enzim aktivitesinin arttığı, ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin kullanılması durumunda ACC konsantrasyonun önemli oranda azaldığı ve dolayısıyla da etilen konsantrasyonun azaldığını saptamışlardır. Araştırmacılar tuzlu koşullar altında bakteri aşılamamanın bitki verimini artırdığını ve bunun temel nedeninin azalan etilen konsantrasyonu olduğunu belirtmişlerdir.

Shimalia ve ark. (2014) yaptıkları çalışmada ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteriler *P. fluorescens* YsS6, *P. migulae* 8R6 ve bunların ACC deaminaz mutantlarının tuzsuz ve iki farklı tuz stres seviyesinde geliştirilen (165 mM ve 185 mM) domateste bitki gelişim parametreleri değerlendirmişlerdir. Mutant olmayan *P. fluorescens* YsS6, *P. migulae* R6 tuzsuz koşullarda bile domates bitkisinin büyümesinde önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. Her iki tuz konsantrasyonunda da mutant olmayan bakteri ile aşıl原因an bitkilerin mutant bakteriler ve bakteri aşıl原因mayan kontrole göre daha fazla yeşil ve kuru biyomas ile daha yüksek klorofil içeriğine sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Suarez ve ark. (2015) yaptıkları araştırmada topraktan izole ettikleri *Hartmannibacter diazotrophicus* bakterisinin bitki büyümesini teşvik edici özelliklerini belirlemişlerdir. Bakterinin ACC deaminaz enzimi içerdiği ve IAA üretebildiği belirlenmiştir. *H. diazotrophicus* bakterisinin tuzlu koşullarda etkinliğini belirlemek amacıyla bakteriyi arpa bitkisine aşıl原因mış ve tuzlu koşullarda bitki gelişimini izlemişlerdir. Araştırma sonucunda arpa kök uzunluğunda %308, fide uzunluğunda ise %189 artış saptandıklarını rapor etmişlerdir.

Kıani ve ark. (2016) tuzlu ve normal koşullar altında aspir tohumlarına ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteri aşıl原因mış ve bitki büyüme parametrelerini incelemişlerdir. Araştırmada 4 adet ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteri kullanmışlardır. Deneme sonucunda, tuzlu ve normal koşullar altında bitki verimi, bitki boyu, bitki kuru ağırlığı, bitkide tohum sayılarında bakteriler ile aşıl原因ananların kontrole göre önemli oranda artış sağladığını saptamışlardır.

Singh ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakteri tuz stresi altında gelişen buğday gelişimi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada 4 ayrı tuz dozu (150, 175, 200 mM NaCl) kullanılmış ve araştırma sonucunda *Enterobacter* sp. SBP-6 ile aşıl原因anan buğdayların kontrol grubuna göre daha yüksek bitki kuru ağırlığına, klorofil ve bitki K⁺ kapsamına ve daha düşük bitki Na⁺ kapsamında neden olduğu saptanmıştır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Bakteri izolasyonu için toprak örneklerinin alınması

Topraktan bakteri izolasyonu yapmak amacıyla Eskişehir, Konya ve Afyon il, ilçelerde buğday tarımı yapılan alanlardan toprak örnekleri buğday köklerini içerecek şekilde paslanmaz çelik kürek yardımı ile alınarak bez torbalar içinde laboratuvara getirilmiştir. Toprak örneklerinin alındığı noktalar Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) yardımı ile kayıt altına alınmıştır. Laboratuvara getirilen toprak örnekleri bitki köklerin dikkatlice ayrıştırılmış ve kökler arasında kalan topraklar bakteri izolasyonunda kullanılmış ve diğer topraklar ise toprak analizinde kullanılmıştır. Toprak örneklerinin alındığı il ve ilçeler ile konum bilgileri tablo 2.1’de sunulmuştur.

Tablo 2.1. *Toprak örneklerinin alındığı yerler*

Lab no	il	ilçe	Koordinatlar		
			Doğu	Kuzey	Yükseklik
1	Eskişehir	Alpu	36322399	4408846	765
2	Eskişehir	Alpu	36325296	4411552	770
3	Eskişehir	Alpu	36323696	4408699	769
4	Eskişehir	Alpu	36330814	4405474	767
5	Eskişehir	Alpu	36337240	4400271	768
6	Eskişehir	Alpu	36334735	4397561	753
7	Eskişehir	Alpu	36334657	4396943	759
8	Eskişehir	Alpu	36333960	4398451	762
9	Eskişehir	Sivrihisar	36354366	4357827	840
10	Eskişehir	Sivrihisar	36354677	4357435	804
11	Konya	Çeltik	36392050	4324185	837
12	Eskişehir	Çifteler	36343305	4351191	863
13	Eskişehir	Çifteler	36345938	4349693	855
14	Eskişehir	Sivrihisar	36336355	4374555	871
15	Eskişehir	Odunpazarı	36277101	4391640	838
16	Eskişehir	Odunpazarı	36277696	4392760	824
17	Eskişehir	Odunpazarı	36277053	4392288	827
18	Afyon	Bolvadin	36330691	4280998	951
19	Afyon	Bolvadin	36331843	4280237	964
20	Eskişehir	Çifteler	36341336	4350818	870
21	Eskişehir	Tepebaşı	36294930	4411265	781

2.1.2. Besiyerleri ve kullanılan solüsyonlar

LB broth (Merck)

Pepton (kazeinden)	10 g
Maya ekstraktı	5 g
Sodyum Klorür	10 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözdükten sonra 121 °C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

İndol asetik asit broth (Merck)

Maya ekstraktı	6 g
Pepton (etten)	10 g
Sodyum Klorürü	5 g
Sukroz	5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	10 g
Triptofan	0,2 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözdükten sonra pH 7,5 ± 0,2 ayarlanarak 121 °C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

DF tuz broth (Merck)

Glikoz	2 g
Glukonik asit	2 g
Sitrik asit	2 g
K ₂ HPO ₄	4 g
Na ₂ HPO ₄	6 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	1 mg
HBO ₃	10 µg
MnSO ₄ .2H ₂ O	11,19 µg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	124,6 µg
CuSO ₄ .7H ₂ O	78,22 µg
MoO ₃	10 µg
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözdükten sonra pH $7,2 \pm 0,2$ ayarlanarak 121°C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Modifiye DF tuz agar (Merck)

Glikoz	2 g
Glukonik asit	2 g
Sitrik asit	2 g
K_2HPO_4	4 g
Na_2HPO_4	6 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1 mg
HBO_3	10 μg
$\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	11,19 μg
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	124,6 μg
$\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	78,22 μg
MoO_3	10 μg
ACC	0,3 g
Agar	12 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği ACC hariç 950 ml distile suda çözdükten sonra pH $7,2 \pm 0,2$ ayarlanarak 121°C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. ACC 50 ml distile su içinde çözüldükten sonra 0,2 μm filtre ile steril edildikten sonra soğutulmuş olan 950 ml besiyerine eklenmiştir.

NBRIP broth (Merck)

Glikoz	10 g
Kaya fosfat	5 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5 g
KCI	0,2 g
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0,1 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,25 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözdükten sonra pH $7,0 \pm 0,2$ ayarlanarak 121 °C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Azotsuz malat sukroz agar (Merck)

Sukroz	10 g
Malik asit	5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,2 g
FeCl ₃	0,01 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,02 g
NaCl	0,1 g
K ₂ HPO ₄	0,1 g
KH ₂ PO ₄	0,4 g
NaMoO ₄ .H ₂ O	0,002 g
Agar	15 g
Distile su	1000 ml

Besiyeri içeriği distile suda çözdükten sonra pH $7,0 \pm 0,2$ ayarlanarak 121 °C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir.

Hoagland solüsyonunun hazırlanışı

Komponent	Stok Solüsyon hazırlanışı	ml Solüsyon /1 L
2M KNO ₃	202 g/L	2,5
1M Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236 g/0.5L	2,5
Demir EDTA	15 g/L	1,5
2M MgSO ₄ .7H ₂ O	493 g/L	1
1M NH ₄ NO ₃	80 g/L	1
H ₃ BO ₃	2,86 g/L	1
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,81 g/L	1
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22 g/L	1
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,051 g/L	1
H ₂ MoO ₄ .H ₂ O or	0,09 g/L	1
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,12 g/L	1
1M KH ₂ PO ₄ (pH : 6.0)	136 g/L	0,5

Hoagland solüsyonu Hoagland ve Arnon (1950) göre hazırlanmış ve 121 °C 15 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. Kullanımdan önce 1/1 oranında steril saf su ile sayreltilerek ½ hoagland solusyonu şeklinde kullanılmıştır.

Stok modifiye universal buffer (MUB)

Tris	12,1 g
Malik asit	11,6 g
H ₃ BO ₃	6,3 g
Sitrik asit	14,0 g

İçerik 488 ml 1 N NaOH çözeltisinde çözünmüş ve saf su ile litreye tamamlanmıştır. Stok çözeltiden 200 ml alınarak alkalın fosfataz için pH 11,0 ± 0,2 ‘ye ayarlanmış ve litreye saf su ile tamamlanarak kullanılmıştır. Stok çözeltiden 200 ml alınarak pH 6,0 ± 0,2 ayarlanarak litreye tamamlanmış ve β-glukosidaz enzim analizinde kullanılmıştır.

Alkalın fosfataz subsrat hazırlanışı

Disodyum p-nitrofenol fosfat	0,420 g
------------------------------	---------

Substrat 50 ml MUB pH 11,0 ± 0,2 içinde çözünerek hazırlanmış ve kullanılıncaya kadar + 4 °C ‘de saklanmıştır.

β glukosidaz subsrat hazırlanışı

p-Nitrofenol β-D glukozid	0,654 g
---------------------------	---------

Substrat 50 ml MUB pH 6,0 ± 0,2 içinde çözünerek hazırlanmış ve kullanılıncaya kadar + 4 °C ‘de saklanmıştır

Tris aminometan (THAM)

Tris	12,2 g
------	--------

Substrat 500 ml saf su içinde çözünerek hazırlanmış, pH 12,0 ± 0,2 ayarlanarak kullanılıncaya kadar + 4 °C ‘de saklanmıştır

2.2. Yöntem

2.2.1. Bakteri izolasyonu

Laboratuvara getirilen toprak örneklerinde rizosfer toprağından bitki kökleri uzaklaştırılarak 10 g toprak 100 ml steril serum fizyolojik su içerisinde 30 dk. çalkalanmıştır. Çalkalama sonrasında toprağın çökmesi beklenmiş ve 1 ml üst fazdan alınarak 20 ml steril sıvı LB besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat $28,5 \pm 1$ °C inkübasyon sonunda gelişen bakterilerden dilüsyon serileri hazırlanarak 10^{-7} ve 10^{-8} tüplerinden azot kaynağı olarak 1-aminosiklopropan-1-karboksilikaside (ACC)'nin kullanıldığı DF tuz besiyerlerine ekim yapılmıştır. DF tuz besiyerleri 3 gün $28,5 \pm 1$ °C inkübasyona bırakılmış ve 3 günün sonunda gelişen farklı koloniler saflaştırılarak % 40 gliserol içeren LB besiyerinde -20 °C saklanmıştır. Azot kaynağı olarak ACC'nin kullanıldığı DF tuz besiyerlerine gelişen tüm bakteriler ACC deaminaz pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir.

2.2.1.1. Gram boyama

Katı LB yerinde gelişen 18-24 saatlik bakteriler öze yardımı ile alınarak, bir damla distile su damlatılmış lam yüzeyine yayılarak kuruması sağlanmıştır. Lam üzerinde kuruyan bakteriler bek alevinden geçirilerek fiske edilmiştir. Fikse edilen bakteriler üzerine kristal viyole boyaması eklenerek bir dakika beklenmiştir. bir dakikanın sonunda preparat distile sus ile yıkanmış ve ardından lügol solüsyonu eklenmiş ve 1 dakika beklenmiştir. Daha sonra preparat tekrar yıkanmış ve preparat % 96'lık etil alkolde 10-15 saniye bekletilmiştir. Son aşamada preparata safranin boyası eklenerek 30 saniye bekletilmiş ve tekrar yıkanmıştır. Daha sonra preparatın kuruması beklenmiş ve mikroskop altında yapılan incelemede pembe renkte görülen bakteriler gram negatif (-), mavi renkte görülenler gram pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir (Tamer ve ark. 1989).

2.2.2. Toprak analizleri

Laboratuvara getirilen topraklar 2 mm'lik elekten elenerek analize hazırlanmıştır. Laboratuvara getirilen topraklar ve saksı denemelerinde kullanılan topraklarda aşağıdaki analizler yapılmıştır.

2.2.2. Toprak bünye analizi

Toprak bünye analizi Bouyoucos' a göre yapılmıştır. Analiz için 50 g toprak örneği tartılarak 5 ml doygun sodyum okzalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) çözeltisi ve 5 ml 1 M sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi eklenerek bir gece beklenmiştir. Ertesi gün 100 ml saf eklenerek bünye mikseri yardımı ile toprak tamamen parçalanarak bouyoucos hidrometresi ile toprak bünyesi %Kum, %Kil ve %Silt olarak belirlenmiştir (Tüzüner, 1990)

2.2.2.2. Toprak saturasyon analizi

Toprak saturasyonu için 100 g toprak tartılarak porselen kaplarda saf su ile toprak ezilerek toprak macunu elde edilmiştir (Tüzüner, 1990).

2.2.2.3. Toprak pH ve tuz miktarının belirlenmesi

Toprak saturasyonu oluşturulduktan sonra 1 gece beklenmiş ve ertesi gün toprak pH'sı pH metre ile ölçülmüştür. Daha sonra toprak macunun (saturasyonun) suyu basınçlı vakum cihazında çıkarılarak çıkan ekstrakta EC metre ile tuzluluk ölçülmüştür (Tüzüner, 1990).

2.2.2.4. Toprağın kireç kapsamının belirlenmesi

Toprakta kireç analizi Scheibler kalsimetresi kullanılarak belirlenmiştir (Tüzüner, 1990).

2.2.2.5. Toprak organik maddesinin belirlenmesi

Toprakta organik madde analizi Wackley-Black yöntemine göre yapılmıştır. Analiz için 1 g toprak örneği 250 ml erlene konmuş üzerine 10 ml potasyum dikromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) ve 20 ml sülfürik asit (H_2SO_4) eklenerek 150 C⁰'lik ısıtıcı tabla üzerinde 1 dk bekletilmiştir. Numunenin soğumasının ardından 200 ml su eklenerek fenoldiamin ($(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH}$) indikatörü kullanılarak 0,5 N demir sülfat FeSO_4 titrasyonu ile sonuç hesaplanmıştır (Tüzüner, 1990).

2.2.2.6. Toprakta bitkiye yararlı fosfor miktarının belirlenmesi

Toprakta fosfor analizi Olsen yöntemiyle yapılmıştır. Fosfor analizi için 5 g toprak örneği tartılarak 100 ml sodyumhidrojenkarbonat (NaHCO_3) ile 30 dk çalkalayıcıda karıştırılarak süzölmüş ve süzöntü askorbik asit kullanılarak

renklendirilmiştir. Örnekler spektrofotometrede okunarak toprakların fosfor içerikleri saptanmıştır (Tüzüner, 1990).

2.2.2.7. Toprakta bitkiye yarayışlı potasyum miktarının belirlenmesi

Toprakta potasyum miktarını belirlemek için 10 g toprak örneği tartılarak üzerine 25 ml amonyum asetat ($\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}$) eklenmiş ve bir gece beklenmiştir. Ertesi gün toprak süzülerek $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}$ ile 100 ml'ye tamamlanmış ve alev fotometresinde okunmuştur (Tüzüner, 1990).

2.2.3. Bakteri izolatlarının seçimi

İzolasyonu ve saflaştırması yapılan ACC deaminaz içeren bakterilerin tuzlu ortamda etkinliği belirlemek için üç aşamalı deneyler düzenlenmiştir. İlk aşamada bakteriler petri testlerine tabi tutulmuş ve petri testleri sonucunda etkin bulunan bakteriler ikinci aşamada kavanoz testlerine alınmıştır. Kavanoz testleri sonucunda belirlenen bakteriler ile saksı denemeleri kurulmuştur.

2.2.3.1. Buğday tohumlarına bakteri izolatlarının aşılınması

Tuzlu koşullarda etkinliği belirlenecek bakteri izolatları buğday tohumlarına aşılınmıştır. Buğday tohumları çok kısa bir süre % 95' lik etanole maruz bırakıldıktan sonra % 2 HgCl_2 solusyonunda 3 dk bekletilmiştir. Buğday tohumları steril saf su ile 3 kez yıkanarak steril hale getirilmiştir. Steril tohumlar 5 dk 3 mM ACC solüsyonunda bekletildikten sonra tohumlar McFarland 0,5' e göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründe 30 dk bekletilerek bakteri izolatlarının tohumlara aşılınması sağlanmıştır (Zahir ve ark. 2009).

2.2.3.2. Petri denemeleri

Petri testlerinde steril filtre kağıdı içeren steril petrilere 5 adet tohum steril şartlarda konulmuştur. Petrilere tohumların üstünü kapatacak şekilde ikinci bir filtre kağıdı ile kapatılmış ve her bir petriye 5 ml steril 45 mM NaCl solüsyonu eklenmiştir. Kontrol olarak saf su ve 45 mM NaCl solüsyonu kullanılmıştır. Deneme 7 gün sürdürülmüş ve deneme sonucunda bitkilerin kök ve fide uzunlukları ölçülmüştür. Test 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur.

2.2.3.3. Kavanoz testleri

Petri denemeleri sonucunda seçilen izolatlar ile kavanoz testleri kurulmuştur. Kavanoz testlerinde bakteri ile aşılamanın buğday tohumlarından beşer adet tohum, steril kurutma kağıtlarının üst kısmından 2-3 cm aşağı kısmına dizilmiş ve ikinci bir kurutma kağıdı üstlerine kapatılarak kağıtlar rulo haline getirilmiştir. Hazırlanan kağıt rulolar içinde 80 mM (~ 8 dS/m) NaCl bulunan 300 ml ½ Hoagland çözeltisi bulunan kavanozlara yerleştirmiştir. Kavanozlar bitki büyütme kabiniinde 25 °C’ de 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık olacak şekilde 21 gün tutulmuştur. Kavanoz testleri üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve sonucunda gelişen bitkilerin fide ve kök uzunlukları belirlenmiştir. NaCl içermeyen kontrol ile bakteri aşılamanmayan kontrollerde deneme ile birlikte kurulmuştur.

2.2.4. Bakteri İzolatlarının Tür Tayinleri

Kavanoz testleri sonucunda sera denemeleri için seçilen bakterin tür teşhisi VİTEK II cihazın bakterilerin karbon kaynaklarını kullanımı esasına göre yapılmıştır. Bakterilerin tür tayini 16 s rDNA analizi ile doğrulanmıştır. Bu amaçla bakteri iolatlarının genomik DNA’sı GeneJETgenomik DNA saflaştırma kiti kullanılarak saflaştırılmıştır. Bu amaçla kullanılan kit protokolü aşağıda belirtilmiştir.

24 saatlik taze kültür 5000 x g’de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Pelet 180 µL liziz tamponunda (20 mM Tris-HCl, 2 mM EDTA, %1,2 Triton X-100, 20 mg/mL lizozim, pH: 8.0) süspanse edildikten sonra 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. 200 µL liziz solüsyonu ve 20 µL Proteinaz K eklenmiş ve vortekslenmiştir. Homojen bir süspansiyon elde edildikten sonra 56°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir. 20 µL RNase A solüsyonu eklenmiş, vortekslenerek karıştırıldıktan sonra 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 400 µL %50 etanol eklenmiş ve vortekslenmiştir. Lizat kolona transfer edilmiş ve 6000 x g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. 500 µL yıkama solüsyonu I eklenmiş ve 8000 x g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Koleksiyon tüpündeki sıvı uzaklaştırılmıştır. 500 µL yıkama solüsyonu II eklenmiş ve 3 dakika 12000 x g’de santrifüj edilmiştir. 50 µL elüsyon tamponu kolonun merkezine eklenmiş, 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra 8000 x g’de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen DNA -20°C’de saklanmıştır.

Elde edilen genomik DNA, kalıp DNA olarak kullanılarak 16S rRNA gen bölgesi

için PCR kurulmuştur. Bu amaçla 27F 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' ve 1492R 5'-TACGGYTACCTTGTACGACTT-3' evrensel primerleri kullanılmıştır. Reaksiyon bileşenleri olarak, 10XTaqBuffer (+KCl-MgCl₂), 2,5 µL; 25 mM MgCl₂, 2,5 µL; 2,5 mM dNTP mix, 2,5 µL; 2,5 mM 27F primer, 2,5 µL; 2,5 mM 1492R primer 2,5 µL; Taqpolimeraz (5 u/µL), 0,25 µL; nükleaz içermeyen distile su, 11,75 µL; kalıp DNA, 1 µL kullanılmıştır. PCR işleminde, ön denatürasyon basamağı 94°C'de 3 dak.; denatürasyon basamağı 94°C'de 30 sn., bağlanma basamağı 55°C'de 1 dak., uzama basamağı 72°C'de 2 dak., 35 döngü; son uzama basamağı ise 72°C'de 5 dak. olarak yapılmıştır.

Reaksiyon sonucunda elde edilen PCR ürünü %1'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir. Elde edilen yaklaşık 1400 baz çiftlik bölgenin dizi analizinde 1492R ve 907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') primerleri kullanılmıştır. İzolatların dizi analizleri, BM Laboratuvar Malzemeleri Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi tarafından yapılmıştır. Elde edilen dizi bilgisi BioEdit , dizi hizalama editörü ile düzenlenmiş ve birleştirilmiştir.

2.2.5. Bakteri İzolatlarının Bitki Büyümesini Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi

Kavanoz testleri sonucunda sera denemeleri için seçilen bakterin izolatların belirlenmesi için bakterilerin azot fiksasyon, fosfor çözebilme, indol asetik asit, siderofor üretim, hidrojen siyanid, amonyum üretim ve ACC deaminaz testleri yapılmıştır.

2.2.5.1. Azotsuz ortamda gelişim testi

Bakterilerin azot içermeyen ortamda gelişip gelişmediklerini belirlemek için azotsuz malat sukroz besiyeri kullanılmıştır. McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründen azotsuz malat sukroz besiyerine çizgi ekim yapılarak 7 gün 28,5 ± 1 °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyerinde gelişen bakteriler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5.2. Fosfor çözebilme testi

Bakteri izolatlarının fosfor çözebilme özelliklerin belirlenmesinde NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) besiyeri kullanılmıştır. McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründen 0.2 ml alınarak 20 ml NBRIP besiyerine ekim yapılmış ve 150 rpm'de 3 gün boyunca $28,5 \pm 1$ °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyeri 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatantta bulunan fosfor miktarı Pelkin Elmer marka indüktif eşleşmiş plazma – optik emisyon spektrometresi (ICP-OES) cihazında belirlenmiştir.

2.2.5.3. İndol asetik asit üretimi

Bakterilerin indol asetik asit üretilip üretilmediğini Bharucha ve ark. (2013) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla IAA üretimi için uygun besiyeri hazırlanarak McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründen 0.2 ml alınarak 20 ml besiyerine ekilmiş ve 150 rpm'de 3 gün boyunca $28,5 \pm 1$ °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda besiyeri 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant alınmıştır. IAA üretimini belirlemek için 2 ml süpernatant alınarak üzerine 2 damla fosforik asit eklenmiş ve 4 ml Salkowski solüsyonu (1 ml 0.5 M FeCl_3 içeren 50 ml %35 HClO_4) eklenerek 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. 1 saatin sonunda oluşan renk standart IAA grafiği yardımı ile spektrofotometrede 535 nm ölçülerek hesaplanmıştır.

2.2.5.4. Siderofor üretimi

Bakterilerin siderofor üretim testleri Schwyn ve Neilands (1987) göre mavi indikatör boya kullanılarak yapılmıştır. Bu test için 60.5 mg kromo azurol S (CAS) 50 ml saf su içinde çözünmüş ve 10 ml Fe^{+3} solüsyonu (1 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 mM HCl içinde hazırlanmıştır) ile karıştırılmıştır. CAS+ FeCl_3 solüsyonu 40 ml heksadesiltrimetilamonyum (HDTMA) çözeltisi içine dikkatlice karıştırılarak otoklavlanmıştır. HDTMA çözeltisi 72,9 mg HDTMA 40 ml saf su içinde çözülerek hazırlanmıştır. Son olarak hazırlanan 100 ml boya çözeltisi 900 ml steril pH 6,8 LB besiyerine eklenmiştir. McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründen hazırlanan besiyerine 5 µl nokta ekimi yapılmış ve 5 gün $28,5 \pm 1$ °C'de inkübe edilmiştir. Gelişen bakteri kolonisi etrafında mavi rengin sarıya dönmesi siderofor üretiminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

2.2.5.5. Hidrojen siyanid testleri

Bakterilerin hidrojen siyanid (HCN) testleri Ahmad ve ark. (2008) tarafından önerilen yöntemle belirlenmiştir. HCN testlerinde nutrient broth içine 4,4 g/L glisin eklenmiş ve McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründe 200 µl modifiye edilen nutrient agar petrilerine yayılmıştır. Petri kapaklarına kurutma kağıdı yerleştirilerek kağıt 1 ml % 0,5'lik pikrik asit solüsyonunda çözünen %2'lik sodyum bikarbonat çözeltisi ile ıslatılmıştır. Petri kapağı petri üzerine kapatılarak parafilm ile sarılmış ve 5 gün $28,5 \pm 1$ °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda kurutma kağıtlarının sarıdan kahverengi-kırmızıya dönüşmesi HCN üretiminin olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

2.2.8.6. Amonyak testleri

Bakterilerin amonyak (NH₃) testleri Cappuccino ve Sherma (1992)' ya göre belirlenmiştir. McFarland 0,5 göre ayarlanmış 24 saatlik bakteri kültüründe 100 µl 10 ml peptonlu su bulunan tüplere ekilerek ve 5 gün $28,5 \pm 1$ °C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda tüplere 0,5 ml Nessler reaktifi eklenmiş ve tüplerde sarı renk oluşumu amonyak üretimi olarak değerlendirilmiştir.

2.2.8.7. ACC deaminaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

ACC deaminaz enzim miktarı Glick ve Penrose (2002) göre belirlenmiştir. Bu amaçla bakteriler 15 ml LB besiyerinde $28,5 \pm 1$ °C'de 150 rpm 'de 20 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 5 µl bakteri kültürü 7,5 ml LB besiyerinde aynı koşullarda tekrar inkübe edilmiştir. İkinci inkübasyonun sonunda 8000 g +4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek hücreler toplanmıştır. 5 ml DF tuz broth ile hücreler yıkanmış ve tekrar 8000 g +4 °C'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılarak hücreler 7,5 ml DF tuz broth ile $28,5 \pm 1$ °C'de ile 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon öncesi DF tuz broth içerisine 45 µl 0,5 M ACC solüsyonu eklenmiştir. İnkübasyon sonunda bakteriler 8000 g +4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Toplanan hücreler 5 ml 0,1 M Tris-HCl pH 7,6 ile süspanse edilmiştir. Ardından hücreler 8000 g, +4 °C'de 10 dk santrifüj edilerek süpernatant uzaklaştırılmış ve bu işlem toplam 3 kez yapılarak hücrelerden besiyerinin tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Hücreler ardından 600 µl 0,1 M Tris-HCl pH 8,5 ile süspanse edilmiş ve 30 µl toluen eklenerek 30 saniye vortekslenmiştir. 100 µl protein analizi için ayrılmış

kalan örneklerden 200 µl alınarak üzerine 20 µl 0,5 M ACC solüsyonu eklenmiş ve 30 °C 15 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından 1 ml 0,56 M HCl eklenmiş ve 16000 g 5 dk oda ısısında santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası 1 ml süpernatant alınarak üzerine 800 µl 0,56 M HCl eklenmiş ve ardından 300 µl 2,4 dinitrofenilhidrazin eklenerek 30 °C 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda tüplere 2 ml 2 N NaOH eklenerek oluşan renk 540 nm’de spektrofotometre de okunarak standart α-ketobutirat eğrisi yardımı ile belirlenmiştir.

Standart α-ketobutirat eğrisi 0,2 ile 1 µmol arasında hazırlanmıştır. Standartlar ve hazırlanışı tablo 2.2 sunulmuştur. Standart oluşturmada 100 mM α-ketobutirat seyreltilerek 1 mM α-ketobutirat elde edilmiş ve standart oluşturmada 1 mM α-ketobutirat kullanılmıştır. Hazırlanan standartlara üzerine 300 µl 2,4 dinitrofenilhidrazin eklenerek 30 °C 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda tüplere 2 ml 2 N NaOH eklenerek oluşan renk 540 nm spektrofotometre ölçülmüştür.

Tablo 2.2. Standart α-ketobutirat hazırlanışı

Standart	Stok 1 mM	Tris-HCl pH 8,5	Toplam Hacim
0 mM	0 µl	200 µl	200 µl
0,2 mM	40 µl	160 µl	200 µl
0,4 mM	80 µl	120 µl	200 µl
0,6 mM	120 µl	80 µl	200 µl
0,8 mM	160 µl	40 µl	200 µl
1 mM	200 µl	0 µl	200 µl

ACC deaminaz enzim miktarı hesaplanırken ACC ve ACC içermeyen bakteri ekstraktının absorbansı enzim absorbansından çıkarılmış ve ACC deaminaz (µmol keto/ mg protein/ saat))= grafikten okunan değer / ACC deaminaz için kullanılan ml / protein / inkübasyon zamanı formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6. Sera Denemeleri

Kavanoz testleri sonucunda 5 bakteri izolatu ile saksı denemeleri kurulmasına karar verilmiştir. Sera denemelerinde Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü arazisinden toprak alınarak 2 mm elekten elenmiştir. Elenen toprak içine 1/3

oranında 2 mm elekten elenen kum ile iyice karıştırılmış ve homojen karışımdan 4,5 kg plastik poşetlere doldurulmuştur. Deneme 4 ayrı tuz seviyesinde (0,95 – 3,98 – 7,80 – 11,05 dS/m) 7 konulu ve 4 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Deneme Uygulamaları; 1- Kontrol, 2- 10/6 nolu izolat, 3- 11/5 nolu izolat, 4-15/1 nolu izolat, 5-18/6 nolu izolat 6- 21/4 nolu izolat 7- 15/1 ve 21/4 (kavanoz testlerinde en uzun kök ve fide oranına sahip izolatlar) kombinasyonudur. Plastik torbalardaki topraklar istenen tuz seviyesine getirilmesi için hesaplanan tuz miktarı NaCl cinsinden suda çözünerek topraklara uygulanmıştır. Torbalara 8 adet Uygulamalarına göre bakteri aşılantı buğday tohumu ekilmiş ve çimlenen tohumlar sayılarak çimlenme yüzdesi belirlenmiştir. Torbalardaki tohumlar seyreltilerek 4 adet bitkinin gelişmesi sağlanmıştır. Sera denemesinde kullanılan toprakların analizi yapılarak bitkilerin ihtiyaç duyduğu bitki besin maddesi eksikleri belirlenmiş ve fosfor eksikliği Diamonyum Fosfat (DAP), azot eksikliği ise % 21 amonyum sülfat gübresi ile tamamlanmıştır. Deneme tesadüf parsellerinde faktoriyel deneme desenine göre yürütülmüştür. Denemede sulama haftada iki defa saf su ile topraklardan sular drenaj olmayacak şekilde yürütülmüştür. Sera denemelerinde saksı başına verim, biyomas, buğday yapraklarında prolin, malondialdehit, membran stabilite indeksi, karotenoid miktarı ve yaprak element içerikleri belirlenmiştir. Buğday yapraklarının toplanmasında her saksıdan başaklanma döneminde bayrak yaprağın hemen altında bulunan ilk yapraklar toplanmıştır.

2.2.6.1. Verim

Plastik torbalarda gelişen bitkilerin başakları toplanmış, tohumlar temizlenerek tartılmış ve saksı başına g verim olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6.2. Biyomas

Denemelere verim için başaklar toplandıktan sonra bitkiler köklerinden kesilerek 65 °C 48 saat tutularak kurutulmuştur. Kurutulan örnekler tartılarak saksı başına g olarak değerlendirilmiştir.

2.2.6.3. Prolin

Buğday yapraklarının prolin içeriği Bates ve ark. (1973) belirttiği yöntemle belirlenmiştir. Prolin miktarının tayininde 0,250 gr taze yaprak örneği alınarak 10 ml %3 sulfosalisilik asit içeren çözeltide homojenize edilmiştir. Homojenat 10 dk 5000 g

santrifüj edilmiştir. 2 ml süpernatant cam tüplere alınarak üzerlerine 2 ml ninhidrin ve 2 ml asetik asit eklenmiştir. Cam tüpler 95 °C’ de 1 saat sıcak su banyosunda tutulduktan sonra soğuk su içine konarak reaksiyon sonlandırılmıştır. Örnekler üzerine 4 ml toluen eklenerek 10 dk beklenmiştir. Sürenin sonunda toluen renklenmiş ve renklenen toluen spektrofotometrede 520 nm’de okunmuştur. Prolin miktarı standart prolin grafiği yardımı ile ppm cinsinden belirlenmiş ve Prolin (($\mu\text{mol/g FW}$)=(grafik ppm prolin)/115.5) / ((numune g)/5)) formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.4. Malondialdehit (MDA)

Malondialdehit MDA miktarı Heath ve Packer (1968) göre yapılmıştır. MDA miktarını belirlemek için 0,5 gr yaprak örneği 10 ml %0,1 trikloroasetikasit içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat 7500 g 10 dakika santrifüj edilmiş ve santrifüj sonrası 1 ml süpernatant cam tüplere alınarak üzerlerine 4 ml %20 trikloroasetikasit içeren %0,1 thiobarbiturik asit çözeltisi ilave edilmiştir. Cam tüpler 95 °C 30 dakika ısıtıldıktan sonra soğuk su banyosuna alınarak reaksiyon sonlandırılmıştır. 7500 g 10 dakikalık ikinci bir santrifüjlemenin ardında örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 532 ve 600 nm dalga boylarında belirlenmiştir. MDA miktarı, $\text{MDA (nmol/ml)} = ((A_{532} - A_{600}) / 155) * 1000$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.5. Membran stabilite indeksi (MSI)

Membran Stabilite İndeksini belirlemek için saksılardan toplanan yaprak örneklerinden 3 adet 1cm çapında diskler çıkarılmıştır. Çıkarılan diskler 10 ml saf su içeren cam tüplere konmuş, tüpler 30 C⁰ ‘lik su banyosunda 3 saat bekletilmiştir. Daha sonra içerisinde disk bulunan tüplerin elektriksel iletkenlikleri EC metre yardımı ile ölçülmüştür (C1). Yaprak diskleri bulunan tüpler daha sonra 121°C’ de 15 dakika otavlanmış ve solüsyonların oda ısısına kadar soğuması beklenildikten sonra ikinci defa elektriksel iletkenliği ölçülmüştür (C2). Membran Stabilite İndeksi % $= (C1/C2) * 100$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.6. Karotenoid miktarı

Buğday yapraklarında karotenoid miktarı Lichtenthaler (1987)’ nın bildirdiği şekilde yapılmıştır. Karotenoid tayininde 0,5 g taze yaprak alınarak 25 ml %90 Aseton içinde porselen havanda ezilmiştir. Ezilen örnekler daha sonra süzülerek son hacim

aseton ile 50 ml tamamlanmıştır. Örnekler spektrofotometrede 470, 648 ve 663 nm’lerde asetona karşı okunmuş ve Karotenoid (mg/g FW)= $((1000 \times A_{470}) - (2,27 \times \text{Chl A}) - (81,4 \times \text{Chl B}) / 227) \times 50 / 500$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.7. Toprak alkalın fosfataz aktivitesinin belirlenmesi

Saksı topraklarında alkalın fosfataz enzim aktivitesi Tabatabai ve Eivazi (1977) ‘nin belirttiği şekilde yapılmıştır. Saksı topraklarından 1 gr alınarak 0,25 ml toluen, 1 ml substrat (disodyum p-nitrofenol fosfat) eklenmiş ve üzerine 4 ml MUB pH 11,0 $\pm$ 0,2 eklenerek 37 $\pm$ 1 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda numunelere 1 ml 0,5 M CaCl₂ ve 4 ml 0,5 M NaOH eklenmiş ve son olarak numunelere 90 ml saf su ilave edilerek numuneler süzölmüştür. Tüm numuneler için substrat eklenmeyen şahit okumlar yapılmıştır. Süzülen numuneler spektrofotometrede 400 nm dalga boyunda ölçölmüş ve standart p-nitrofenol grafiğı yardımı ppm cinsinden belirlenmiştir. Toprak örneklerinden aynı zamanda numune alınarak 105 $\pm$ 5 °C’de 24 saat tutulmuş ve % kuru toprak (% KT) miktarı belirlenmiştir. Topraklardaki alkalın fosfataz aktivitesi ($\mu\text{g p-NP} / \text{g KT} / \text{saat} = (\text{örnek-Şahit}) \times 1000 / \% \text{ KM}$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.8. Toprak β -glukosidaz aktivitesinin belirlenmesi

Saksı topraklarında alkalın β -glukosidaz enzim aktivitesi Tabatabai ve Eivazi (1988) ‘nin belirttiği şekilde yapılmıştır. Saksı topraklarından 1 gr alınarak 0,25 ml toluen, 1 ml substrat (p-nitrofenol β -D glukosid) eklenmiş ve üzerine 4 ml MUB pH 6,0 $\pm$ 0,2 eklenerek 37 $\pm$ 1 °C’de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda numunelere 1 ml 0,5 M CaCl₂ ve 4 ml 0,1 M Trisaminometan (THAM) eklenmiş ve son olarak numunelere 90 ml saf su ilave edilerek numuneler süzölmüştür. Tüm numuneler için substrat eklenmeyen şahit okumlar yapılmıştır. Süzülen numuneler spektrofotometrede 400 nm dalga boyunda ölçölmüş ve standart p-nitrofenol grafiğı yardımı ppm cinsinden belirlenmiştir. Toprak örneklerinden aynı zamanda numune alınarak 105 $\pm$ 5 °C’de 24 saat tutulmuş ve % kuru toprak (% KT) miktarı belirlenmiştir. Toprak numunelerinde bulunan β glukosidaz enzim miktarı ($\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat} = (\text{örnek-Şahit}) \times 1000 / \% \text{ KT}$ formülü ile hesaplanmıştır.

2.2.6.9. Yaprak element içeriğinin belirlenmesi

Bitkilerden toplanan yaprak örnekleri saf su ile yıkanarak 65 °C' de 48 saat kurutulmuştur. Kurutulan örnekler öğütülerek 0,25 g mikrodalga tüplerine tartılmıştır. Tartılan örneklerin üzerine %20 HClO₄ içeren HNO₃ karışımından 10 ml eklenerek mikrodalga fırında 30 dk süreyle yakılmıştır. Yakma sonucu oluşan sıvı 50 ml tamamlanarak ICP-OES cihazında elementlerin okumaları yapılmıştır.

2.2.7. Sonuçların Değerlendirilmesi

Denemelerden elde edilen veriler JUMP istatistik programı aracılığıyla varyans analizi ile değerlendirilmiş, deneme Uygulamaları arasındaki farklılıkların kontrolünde LSD çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır (Yurtsever, 1984).

3. BULGULAR

3.1. Bakteri İzolasyonu Yapılan Toprakların Özellikleri

Bakteri izolasyonu yapılmak amacıyla Eskişehir ilinin çeşitli bölgelerinde buğday ekili tarlalardan toprak örnekleri alınarak bünye, pH, EC, kireç (%), organik madde (O.M %) bitkiye yarayışlı fosfor ve bitkiye yarayışlı potasyum analizleri yapılmıştır. Analiz sonuçları tablo 3.1 sunulmuştur.

Tablo 3.1. *Toprak analiz sonuçları*

Lab No	Kum %	Silt %	Kil %	Bünye sınıfı	pH	EC dS/m	Kireç %	O. M %	Fosfor ppm	Potasyum ppm
1	15,72	17,7	66,53	C	8,48	1,41	9,11	2,84	71,28	1390
2	46,25	28	25,8	L	8,13	1,02	11,66	2,45	30,72	988
3	33,1	19,4	47,48	C	8,41	1,04	10,57	3,26	160,52	824
4	49,47	19	31,58	CL	7,84	0,81	20,4	1,14	9,25	470
5	14,84	31,9	53,22	C	8,12	2,04	10,93	1,28	59,78	861
6	18,32	25,8	55,88	C	7,62	2,01	10,2	2,39	58,96	1059
7	16,42	23,7	60,01	C	8,08	2,92	18,95	1,96	51,19	879
8	25,51	21,3	53,21	C	8,09	2,38	22,59	1,31	41,96	893
9	20,78	77,2	2,14	SİL	7,58	7,73	26,96	2,92	44,13	583
10	24,87	73	2,15	SİL	7,5	8,3	19,31	3,78	196,14	1810
11	30,88	25,5	43,71	C	7,32	9,03	10,2	2,02	21,74	1073
12	42,97	49,6	7,51	SL	7,7	6,36	28,05	6,07	123,67	220
13	16,4	27,5	56,18	C	8,5	8,33	20,4	1,43	60,66	874
14	25,76	72,9	1,37	SİL	7,75	3,2	13,12	2,62	12,89	288
15	27,23	31,6	41,26	C	7,77	4,1	3,64	1,61	38,72	1008
16	21,13	28,00	50,88	C	7,61	1,69	4,37	1,56	13,02	787
17	32,82	25,6	41,69	C	7,63	1,54	3,64	2,01	15,17	1114
18	11,14	23,6	65,39	C	7,78	2,4	6,92	2,16	12,16	2045
19	10,98	19,2	69,78	C	7,63	1,5	3,64	1,62	14,78	618
20	24,89	29,6	45,66	C	7,9	6,1	4,37	3,33	21,67	789
21	25,12	27,2	47,02	C	7,69	2,8	34,98	1,28	11,86	648

Toprak analiz sonuçlarına göre, topraklarının kil içeriğinin %1,37-69,78, kum içeriğinin ise % 10,98- 49,47 arasında değiştiği belirlenmiştir. Toprak örneklerinin alkali yapıda olduğu ve tuz içeriklerinin 0,81 dS/m ile 9,03 dS/m arasında değiştiği belirlenmiştir. Bakteri izolasyonu için alınan toprak örneklerinin tamamı kireçli bir yapıya sahipken organik madde miktarının % 6,01 ile % 1,14 aralığında değiştiği görülmüştür. Bakteri izolasyonu için kullanılan toprakların %50' sinin organik

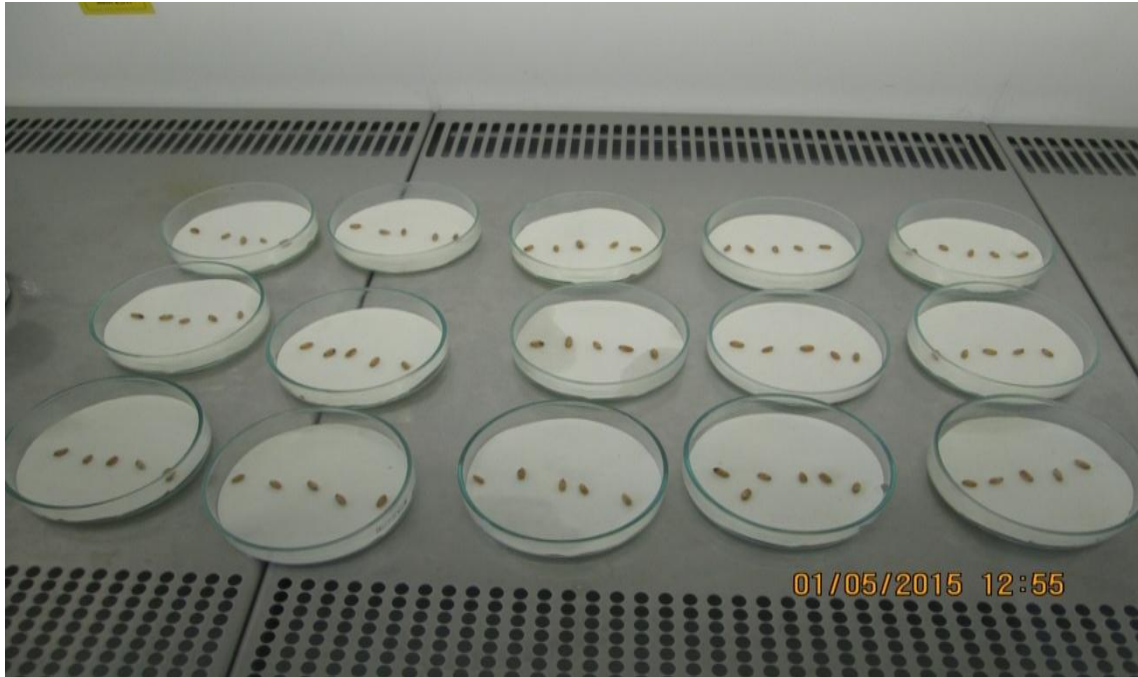
maddece eksik %19' unun yeterli olduğunu belirlenmiştir. Alınabilir fosfor miktarı 11,86 ppm ile 160,52 ppm arasında değişirken, alınabilir potasyum miktarının 220 ppm ile 2045 ppm arasında değiştiği saptanmıştır.

3.2. Bakteri İzolasyonu Tuzlu Ortamda Etkinliklerinin Belirlenmesi

Bakteri izolasyonu amacıyla alınan toprak örneklerinden 122 adet bakteri izolasyonu yapılmış olup bakterilerin 22 adedinin Gram +, 100 adet bakteri izolatının ise Gram – olduğu belirlenmiştir. İzolasyonu yapılan bakteri izolatlarının tuzlu koşullarda bitki gelişimini teşvik edip etmedikleri petri ve kavanoz testleri ile belirlenmiştir.

3.2.1. Petri testleri

Bakterilerin tuzlu koşullarda bitki büyümesini teşvik edip etmediklerini belirlemek amacıyla 122 adet bakteri izolatı buğday tohumlarına aşlanarak petri denemeleri kurulmuştur. Petri denemelerinin sonuçları tablo 3.2'de sunulmuştur. Petri denemelerinin kurulmasına ait görüntüler şekil 3.1'de ve sonuçlarına ait görüntüler şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Petri denemelerinin kurulması



Tablo 3.2. *İzolatların Gram boyama ve petri denemeleri sonuçları*

Tablo 3.2. (Devam) *İzolatların Gram boyama ve petri denemeleri sonuçları*

İzolot No	Gram Boyama	Ortalama Fide Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
3/6	-	6,86 ± 1,56	8,12 ± 1,68
3/7	-	4,83 ± 1,56	5,79 ± 0,98
3/8	-	5,38 ± 0,56	6,69 ± 1,38
4/1	-	5,02 ± 1,44	6,10 ± 0,76
4/2	-	6,82 ± 0,74	6,92 ± 1,63
4/3	-	5,78 ± 1,38	7,99 ± 2,49
4/4	+	5,72 ± 1,14	8,20 ± 1,46
4/5	+	6,18 ± 1,27	7,26 ± 0,69
4/6	-	5,68 ± 0,70	7,03 ± 1,29
5/1	-	5,18 ± 0,50	6,20 ± 1,64
5/2	-	5,06 ± 1,19	7,01 ± 0,93
5/3	-	6,14 ± 1,59	8,02 ± 1,88
5/4	-	5,07 ± 0,47	6,25 ± 0,88
5/5	+	4,85 ± 1,02	5,69 ± 1,28
5/6	-	4,69 ± 0,84	5,71 ± 1,04
6/1	-	6,50 ± 1,79	6,27 ± 1,09
6/2	-	6,14 ± 0,67	5,95 ± 0,12
6/3	-	6,96 ± 0,42	5,95 ± 0,52
6/4	-	4,72 ± 1,30	5,43 ± 0,74
6/5	-	6,04 ± 1,13	5,91 ± 1,20
6/6	+	5,92 ± 0,39	7,03 ± 0,74
7/1	-	6,60 ± 0,41	6,30 ± 1,21
7/2	-	5,20 ± 0,57	6,64 ± 1,89
7/3	-	5,19 ± 1,28	6,48 ± 0,98
7/4	+	5,26 ± 0,74	7,41 ± 1,64
7/5	-	4,80 ± 0,89	6,04 ± 1,36
7/6	-	5,32 ± 1,18	6,35 ± 0,77
8/1	-	5,06 ± 0,41	5,85 ± 1,35
8/2	+	4,90 ± 0,65	5,90 ± 1,24
8/3	-	6,27 ± 0,78	6,90 ± 1,18
8/4	-	6,50 ± 0,87	7,13 ± 1,64
8/5	-	5,29 ± 1,14	6,08 ± 1,37
8/6	-	4,99 ± 1,87	6,38 ± 1,47
9/1	-	4,84 ± 0,43	6,48 ± 0,56
9/2	-	4,54 ± 0,97	5,78 ± 1,19
9/3	-	5,02 ± 0,65	6,23 ± 0,72
9/4	-	4,98 ± 1,68	5,93 ± 2,04
9/5	-	5,09 ± 0,59	6,29 ± 1,14
9/6	-	5,17 ± 0,77	6,42 ± 0,69
9/7	+	4,82 ± 0,34	6,13 ± 0,54
10/1	-	6,19 ± 0,67	6,17 ± 0,78
10/2	+	5,48 ± 0,41	7,27 ± 0,77

Tablo 3.2. (Devam) *İzolaların Gram boyama ve petri denemeleri sonuçları*

İzolat No	Gram Boyama	Ortalama Fide Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
10/3	-	6,60 ± 1,08	7,10 ± 1,59
10/4	-	4,96 ± 0,36	6,15 ± 0,52
10/5	-	5,44 ± 0,62	6,27 ± 1,13
10/6	+	7,02 ± 0,90	7,65 ± 1,90
11/1	-	4,82 ± 0,50	6,83 ± 0,69
11/2	-	4,51 ± 0,43	6,53 ± 0,69
11/3	-	4,64 ± 0,71	5,49 ± 0,76
11/4	-	5,49 ± 0,86	6,40 ± 0,89
11/5	-	5,76 ± 0,57	7,70 ± 0,89
12/1	-	5,90 ± 0,99	6,00 ± 0,79
12/2	-	6,78 ± 1,04	7,01 ± 1,35
12/3	-	5,78 ± 0,69	6,81 ± 0,78
12/4	-	5,23 ± 1,06	6,78 ± 1,34
12/5	-	5,30 ± 0,83	6,08 ± 0,89
12/6	-	5,92 ± 0,82	5,41 ± 1,26
13/1	+	5,67 ± 0,59	6,12 ± 0,56
13/2	+	5,60 ± 0,89	7,27 ± 0,89
13/3	-	5,78 ± 0,41	5,83 ± 0,58
13/4	-	6,14 ± 0,19	7,47 ± 1,67
13/5	-	7,48 ± 1,09	6,63 ± 1,58
14/1	-	5,69 ± 0,98	6,78 ± 1,23
14/2	+	4,98 ± 1,21	6,12 ± 0,45
14/3	-	5,70 ± 1,44	5,09 ± 0,50
14/4	-	7,22 ± 0,83	7,81 ± 0,78
15/1	-	5,90 ± 0,79	7,02 ± 0,90
15/2	-	6,48 ± 0,98	7,25 ± 1,44
15/3	-	5,09 ± 0,78	6,56 ± 0,98
15/4	-	4,94 ± 0,65	5,97 ± 1,67
15/5	-	5,18 ± 1,14	5,63 ± 1,18
15/6	+	5,98 ± 0,63	7,26 ± 0,71
16/1	-	6,42 ± 0,39	7,31 ± 1,31
16/2	+	5,50 ± 0,79	7,10 ± 0,74
16/3	-	5,58 ± 1,06	6,50 ± 1,32
16/4	-	5,40 ± 0,96	6,47 ± 0,84
16/5	-	5,71 ± 0,68	6,90 ± 1,23
16/6	-	4,78 ± 0,67	6,32 ± 0,84
16/7	-	5,36 ± 0,66	6,05 ± 0,85
17/1	-	5,49 ± 0,41	6,72 ± 0,60
17/2	-	5,67 ± 0,65	7,14 ± 1,19
17/3	-	4,78 ± 0,56	6,12 ± 1,14
17/4	+	7,10 ± 0,44	7,50 ± 1,22
17/5	-	5,19 ± 0,98	6,23 ± 1,20

Tablo 3.2. (Devam) İzolatların Gram boyama ve petri denemeleri sonuçları

İzolat No	Gram Boyama	Ortalama Fide Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
17/6	-	4,92 ± 0,75	5,37 ± 0,43
18/1	-	4,58 ± 0,97	4,75 ± 0,71
18/2	+	5,28 ± 0,45	6,72 ± 1,20
18/3	+	4,98 ± 0,31	6,31 ± 0,65
18/5	-	4,99 ± 0,89	5,90 ± 1,45
18/6	-	6,09 ± 0,36	9,02 ± 0,83
19/1	-	5,30 ± 0,69	6,29 ± 0,55
19/2	-	5,76 ± 0,56	6,49 ± 0,91
19/3	-	5,40 ± 0,77	6,01 ± 0,50
19/4	-	5,58 ± 0,64	6,22 ± 1,20
19/5	-	5,54 ± 0,81	6,66 ± 1,77
20/1	-	6,30 ± 1,51	10,23 ± 2,59
20/2	-	5,94 ± 0,70	6,03 ± 0,91
20/3	-	7,04 ± 0,44	10,56 ± 0,89
20/4	+	5,32 ± 0,60	5,62 ± 1,31
20/5	-	5,76 ± 0,56	7,01 ± 0,79
21/1	-	5,70 ± 1,21	6,20 ± 1,03
21/2	-	5,05 ± 0,78	6,09 ± 0,56
21/3	-	6,06 ± 0,75	5,79 ± 1,71
21/4	-	5,90 ± 0,56	7,47 ± 0,47
21/5	-	5,67 ± 0,65	6,03 ± 0,98

Petri denemelerinde 45 mM NaCl içeren ortamda çimlenen buğday tohumlarının kök ve fide boyları ölçülmüştür. Bakteri aşılması yapılmamış buğdaylara saf su ve 45 mM NaCl uygulanarak kontrol grupları oluşturulmuş, 45 mM NaCl grubu ile bakteri izolatları karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Petri denemeleri sonucunda fide uzunluğunun 4,51 cm ile 7,48 cm arasında değiştiği gözlenmiştir. Deneme sonucunda kök uzunluklarının 4,75 cm ile 10,56 cm arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Petri denemeleri sonucunda yapılan değerlendirmeler ile 1/6, 3/8, 4/4, 6/3, 7/4, 10/3, 10/6, 11/5, 13/4, 13/5, 15/1, 15/2, 15/6, 16/1, 17/2, 17/4, 18/4, 18/6, 20/1, 20/3 ve 21/4 no'lu izolatlar ile kavanoz testlerinin kurulmasına karar verilmiştir.

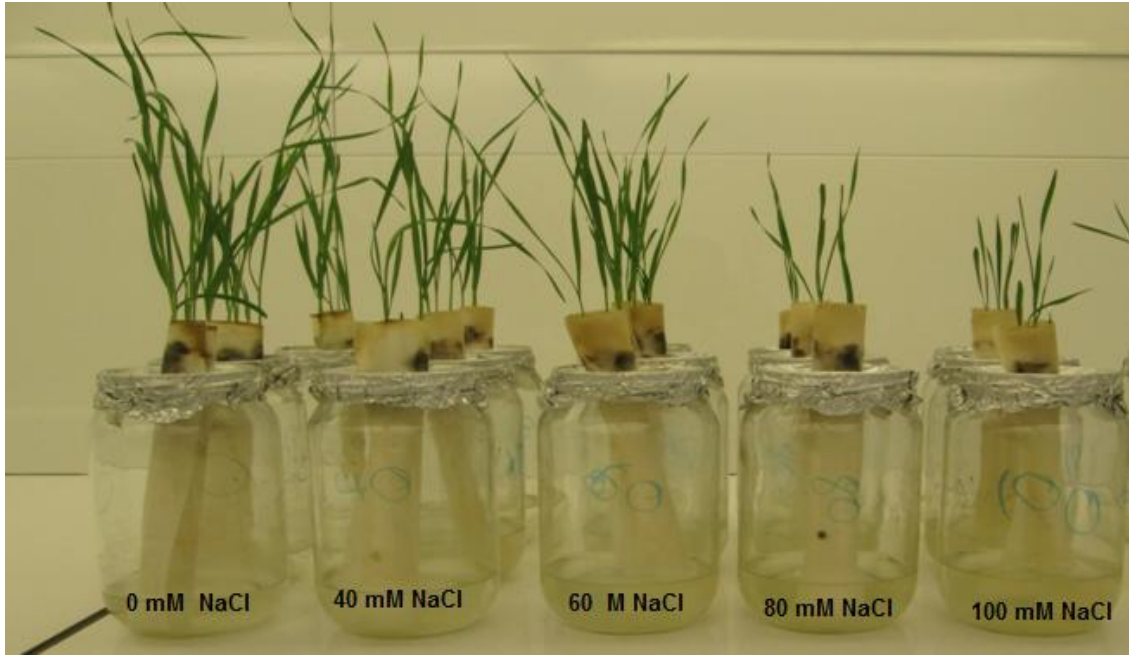
3.2.3. Kavanoz denemeleri

Petri denemeleri sonucunda karar verilen izolatlar ile kavanoz denemeleri kurulmuştur. Kavanoz denemelerinde 80 mM NaCl içeren ½ Hoagland solüsyonu kullanılmış ve her kavanozda bakteri izolatı ile aşılanmış 5 adet buğday tohumu

kullanılmıştır. Kavanoz denemeleri 21 gün sürdürölmüş ve 21. günün sonunda gelişen bitkilerin fide ve kök uzunlukları ölçölerek değeriendirilmiştir. Kavanoz denemelerine ait görüntüler şekil 3.3 ve şekil 3.4’de verilmiştir. Kavanoz deneme sonuçları ortalama $\pm$ standart sapma olarak tablo 3.3’de sunulmuştur.



Şekil 3.3. Kavanoz testlerinin kuruluşu



Şekil 3.4. Kavanoz testlerinin görünüşü

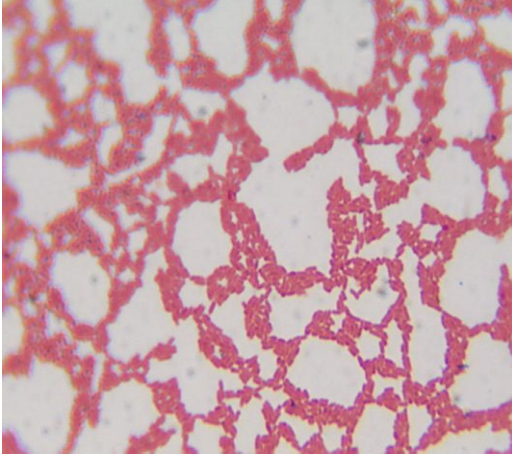
Tablo 3.3. *Kavanoz deneme sonuçları*

İzolat No	Ortalama Fide Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
½ Hoagland	30,20 ± 2,38	18,80 ± 1,30
80 mM NaCl Hoagland	16,00 ± 1,58	6,80 ± 1,30
1/6	19,45 ± 3,78	6,60 ± 2,40
3/8	11,80 ± 3,06	5,40 ± 2,30
4/4	15,40 ± 2,60	6,20 ± 1,73
6/3	14,40 ± 3,27	5,50 ± 2,40
7/4	15,20 ± 2,17	5,01 ± 1,21
10/3	16,20 ± 3,29	7,02 ± 1,00
10/6	24,20 ± 3,21	10,40 ± 2,89
11/5	21,60 ± 2,60	10,60 ± 1,51
13/4	20,80 ± 2,86	7,60 ± 2,88
13/5	20,40 ± 2,98	5,40 ± 2,08
15/1	25,60 ± 2,40	12,40 ± 2,08
15/2	19,10 ± 1,87	6,20 ± 0,88
15/6	19,60 ± 3,64	7,60 ± 2,60
16/1	23,60 ± 3,21	9,00 ± 2,00
17/2	18,60 ± 2,70	9,00 ± 1,21
17/4	20,80 ± 3,56	9,50 ± 2,50
18/4	21,50 ± 2,38	7,20 ± 1,29
18/6	24,20 ± 3,29	9,20 ± 1,31
20/1	23,20 ± 3,83	8,40 ± 1,81
20/3	19,20 ± 3,89	6,40 ± 2,30
21/4	23,60 ± 3,64	13,40 ± 0,89

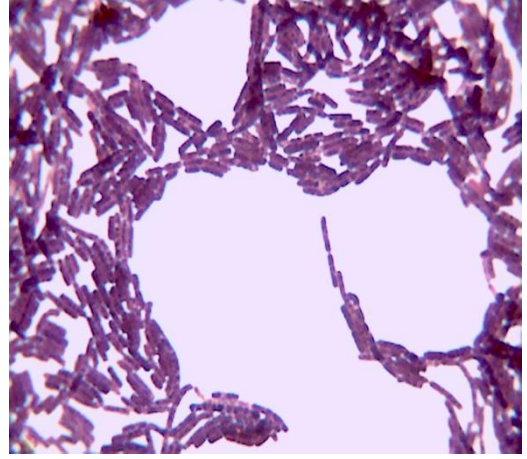
Kavanoz denemeleri sonucunda fide uzunluğunun 15,20 cm ile 30,60 cm arasında değiştiği saptanmıştır. Denemede kök uzunluğunun 18,80 cm ile 5,01 cm aralığında değiştiği gözlenmiştir. Deneme sonucunda 10/6, 11/5, 15/1, 18/6 ve 21/4 no'lu izolatlar ile saksı denemelerinin kurulmasına karar verilmiştir.

3.3. Bakteri İzolatlarını Tür Tayinleri

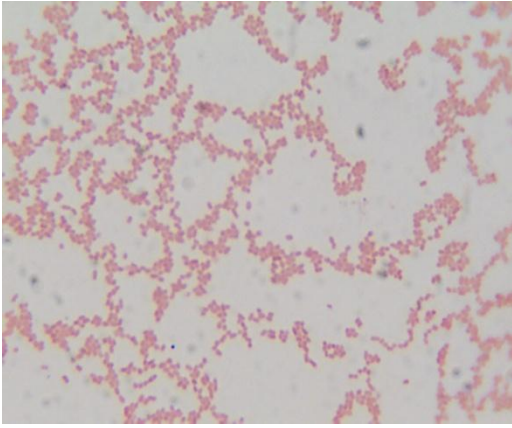
Kavanoz testleri sonucunda saksı denemelerinin kurulmasına karar verilen izolatların 16S rRNA dizi analizi ile sonuçları tablo 3.4'de sunulmuştur. Bu sonuçlara göre analiz edilen 5 adet bakteri izolatı *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera*, *Lelliottia amnigena*, *Arthrobacter arilaitensis* ve *Pseudomonas putida* olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5, 3.6, 3.7, 3.8 ve 3.9).



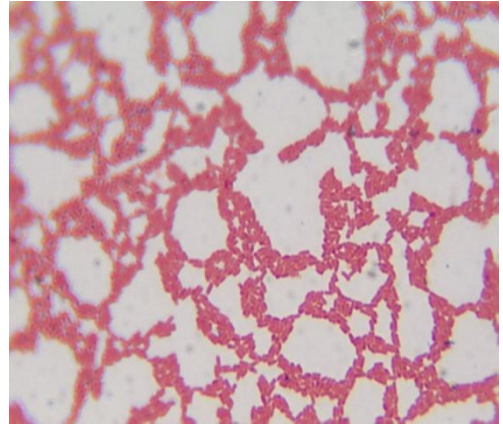
Şekil 3.5. *Arthrobacter arilaitensis* 18/6



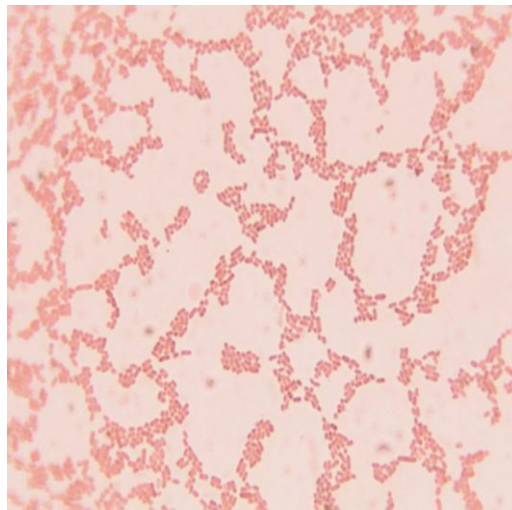
Şekil 3.6. *Bacillus cereus* 10/6,



Şekil 3.7. *Serratia odorifera* 11/5



Şekil 3.8. *Lelliottia amnigena* 15/1



Şekil 3.9. *Pseudomonas putida* 21/4

Tablo 3.4. Saksı denemelerinde kullanılan izolatların tür tayin sonuçları

İzolat Numarası	VITEK II Sonucu	% Benzerlik	16s rRNA sonucu	% Benzerlik	Accession
10/6	<i>B. cereus/mycoides</i>	% 87	<i>B. cereus</i>	% 98	KP027636.1
11/5	<i>S. odorifera</i>	% 99	<i>S. odorifera</i>	% 99	NR037110.1
15/1	<i>Enterobacter amnigenus 2</i>	% 99	<i>L. amnigena</i>	% 100	KM114915.1
18/6	Tanılanamadı	-	<i>A. arilaitensis</i>	% 98	CP012750.1
21/4	Tanılanamadı	-	<i>P. putida</i>	% 99	GQ200822.1

3.4. Bakteri İzolatlarının Bitki Büyümesini Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi

Saksı denemelerinde kullanılmasına karar verilen izolatların bitki büyümesini teşvik edici özelliklerinin belirlenmesi için yapılan testlerin sonuçları tablo 3.5’ de verilmiştir.

Tablo 3.5. Bakteri izolatların bitki büyümesini teşvik edici özellikleri

Bakteriler	P Çöz. Yeteneği (mg /L)	I.A.A Üretimi (mg/L)	Azotsuz ortamda gelişim	NH ₃ Üretimi	Siderofor Üretimi	HCN Üretimi	ACC Deaminaz nmol
<i>B. cereus</i>	-	35	++	+	-	-	51,96
<i>S. odorifera</i>	111,2	27,6	+	-	+	-	96,95
<i>L. amnigena</i>	45,3	26	-	+	-	-	123,50
<i>A. arilaitensis</i>	-	25	+	++	-	+	148,78
<i>P. putida</i>	68,72	14	++	++	-	-	69,75

Yapılan analizler sonucunda sadece *A. arilaitensis* bakterisinin HCN üretebildiği saptanmıştır. *S. odorifera*’nın siderofor üreten tek izolat olmanın yanı sıra fosfor çözebilme yeteneğinin olduğu ve 26,7 ppm I.A.A üretebildiği gözlenmiştir. *B. cereus*, *S. odorifera*, *A. arilaitensis*, *P. putida* izolatlarının azot içermeyen ortamda gelişebildikleri ve *S. odorifera* dışındaki diğer bakterilerin NH₃ üretebildikleri saptanmıştır. ACC deaminaz enzim aktivitesinin 51,96-148,75 nmol α -ketobutirat/mg protein/saat arasında değiştiği gözlenmiştir. Bakteri izolatlarının I.A.A üretimin 14 mg/L ile 35 mg/L arasında değiştiği gözlenmiştir. Bakteri izolatları arasında *S. odorifera*, *L. amnigena*, *P. putida* türlerinin fosfor çözebilme yeteneğine sahip oldukları belirlenmiştir.

3.5. Saksı Denemeleri

Saksı denemeleri Eskişehir Geçit Kuşığı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü seralarında tesadüf parsellerinde faktoriyel deneme desenine göre 4 tuz dozunda 7 konulu ve 4 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Tuz Uygulamaları T_0 : Kontrol (0,95 dS/m), T_1 : 3,98 dS/m, T_2 :7,80 dS/m, T_3 : 11,05 dS/m deneme Uygulamaları ise A_0 : Kontrol, A_1 : *B. cereus*, A_2 : *S. odorifera*, A_3 : *L. amnigena*, A_4 : *A. arilaitensis* A_5 : *P. putida*, A_6 : *L. amnigena* + *P. putida* olarak belirlenmiştir. Saksı denemeleri süresince buğday yapraklarında prolin, MDA, karotenoid, MSİ ve element analizleri, deneme sonucunda ise saksı başına verim ve biyomas ile saksı topraklarında alkalın fosfataz, β -glukosidaz enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Saksı denemelerine ait görüntüler şekil 3.10 ve 3.11’da sunulmuştur.



Şekil 3.10. Saksı denemelerinin genel görünüşü



Şekil 3.11 Saksı denemelerinin hasat zamanı genel görünüşü

3.5.1. Saksı deneme toprağı ve tuz uygulamaları

Saksı denemelerinde kullanılan toprağı hazırlamak amacıyla Eskişehir Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarlalarından toprak alınarak 2 mm elekten elenmiştir. Hazırlanan toprağı 2/3 oranında 2 mm'lik elekten elenmiş kum karıştırılarak saksı toprağı elde edilmiştir. Saksı toprağının özellikleri tablo 3.6 sunulmuştur.

Tablo 3.6. Saksı toprağı analiz sonuçları

Kum %	Silt %	Kil %	pH	EC dS/m	Kireç %	O. M %	Fosfor ppm	Potasyum ppm	Fe ppm	Cu ppm	Zn ppm	Mn ppm
60,01	25,5	14,5	7,8	0,95	5,24	1,44	4,1	425	10,6	1,32	0,78	13,5

Denemede kullanılan saksı toprağı % 60,01 kum içermektedir ve toprağın pH değerinin 7,80 olduğu saptanmıştır. Toprağı fosfor içeriğı 4,1 ppm ve organik madde (O.M) içeriğinin ise % 1,44 olduğu belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucuna göre saksılara verilmesi gereken gübre miktarı belirlenmiştir. Saksılara buğday ekiminden önce saksı başına 1 g %21 Amonyum Sülfat ve 0,50 g Diamonyum Fosfat (DAP) gübreleri verilmiştir. Saksı topraklarına daha sonra hesaplanan miktarlarda NaCl karıştırılarak istenen tuz konsantrasyonları oluşturulmuştur. Saksılar üç günde bir suyun drenaj olmasına izin verilmeyecek şekilde saf su ile sulanmışlardır.

3.5.2. Verim

Saksı denemelerinde gelişen buğdayların başakları toplanarak saksı başına verim (g) olarak hesaplanmıştır. Saksı verimleri ve bu verimler üzerinden yapılan istatistik değerlendirmeler Tablo 3.7’de sunulmuştur. Saksı verimleri üzerinden hesaplanan Uygulamaların % değişim oranları şekil 3.11’de sunulmuştur. % değişim oranı = (tuz konsantrasyonu – kontrol) *100 / kontrol formülü ile hesaplanmıştır. Saksı verimlerinin kontrol Uygulamaları ile tuz seviyeleri arasındaki ilişki regresyon grafiği ile şekil 3.12’de sunulmuştur.

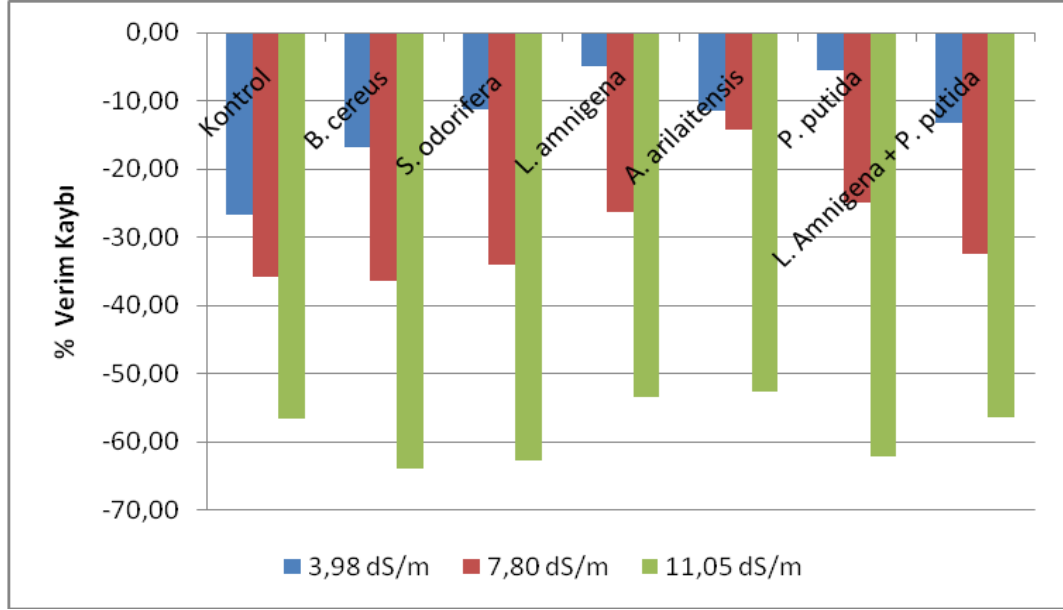
Tablo 3.7. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki yetiştirilen buğdayın verim tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				Ortalama
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	
Kontrol	3,52	2,57	2,26	1,09	2,36 c
<i>B. cereus</i>	3,62	3,01	2,30	1,31	2,45 bc
<i>S. odorifera</i>	3,64	3,23	2,36	1,62	2,71 ab
<i>L. amnigena</i>	3,60	3,42	2,65	1,61	2,82 ab
<i>A. arilaitensis</i>	3,66	3,15	3,05	1,59	2,86 a
<i>P. putida</i>	3,57	3,37	2,68	1,35	2,74 ab
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	3,55	2,66	2,29	1,13	2,40 c
Ortalama	3,58 a	3,08 b	2,51 c	1,43 d	
D.K			% 15		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri^{0D} LSD_{Tuz} : 0,32 LSD_{Bakteri} : 0,42

Saksı denemeleri sonucunda yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının ve bakteri uygulamalarının önemli olduğu tuz x bakteri interaksyonun ise önemsiz olduğu saptanmıştır (Tablo 3.7). Verim değerlerinin 0,95 dS/m tuz skonsantrasyonunda 3,52 g /saksı ile 3,66 g/saksı, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 2,57 g/saksı ile 3,42 g/saksı aralığında değiştiği saptanmıştır. Yapılan analizler sonucunda *L. amnigena* + *P. putida* uygulaması ile bakteri uygulaması yapılmayan kontrol konusunun istatistiki olarak aynı grupta “c” yer aldığı saptanmıştır. *B. cereus* uygulamasının “bc” grubunda yer aldığı gözlenirken, *S. odorifera*, *L. amnigena* ve *P. putida* uygulamaları istatistiki olarak “ab” grubuna girdikleri belirlenmiştir. A.

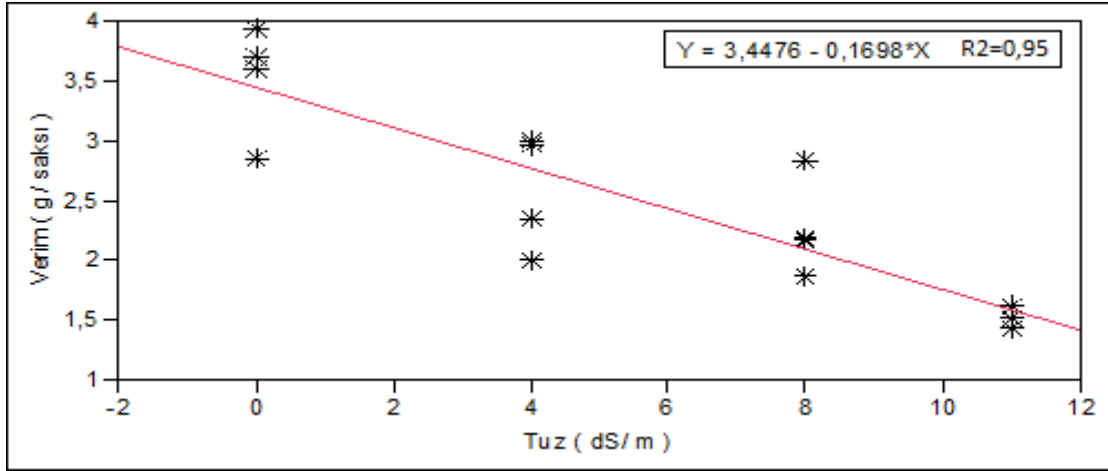
arilaitensis uygulaması istatistiksel olarak “a” grubunda yer aldığı saptanmıştır. Buğday gelişimi üzerinde tuzun etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuş ve 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda buğday veriminin 3,54 g/saksı ile “a” grubunda yer aldığı saptanırken, 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda verim 1,43 g/saksı ile “d” grubunda yer aldığı gözlenmiştir.



Şekil 3.12. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday verimlerinin % azalış oranları

Şekil 3.12 incelendiğinde bakteri uygulaması yapılmayan kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına buğday veriminin %26, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %35 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %56 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bakteri uygulamalarında saksına verim miktarlarındaki azalmaların uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına buğday verimleri 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 16, *S. odorifera* uygulamasında %11, *L. amnigena* uygulamasında %5, *A. arilaitensis* uygulamasında %11, *P. putida* uygulamasında %5 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %13 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına buğday verimleri 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 35, *S. odorifera* uygulamasında %36, *L. amnigena* uygulamasında %26, *A. arilaitensis* uygulamasında %14, *P. putida*

uygulamasında %24 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %32 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre buğday verimlerindeki azalmanın *B. cereus* uygulamasında % 63, *S. odorifera* uygulamasında %62, *L. amnigena* uygulamasında %53, *A. arilaitensis* uygulamasında %52, *P. putida* uygulamasında %62 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %57 oranında olduğu saptanmıştır.



Şekil 3.13. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayın verimleri ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

Tuz konsantrasyonları ile verim arasında yapılan regresyon analizi sonucunda verim ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve R^2 değerinin 0,95 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.13).

3.5.3. Biyomas

Deneme süresinde saksılarda yetiştirilen buğdayların başakları toplandıktan sonra bitkiler toprak üstü aksamı kesilerek kurutulup tartılmış ve g/saksı olarak hesaplanmıştır. Bitki biyoması ve bu veriler üzerinden yapılan istatistiki değerlendirme tablo 3.8’ de sunulmuştur.

Tablo 3.8 incelendiğinde biyomas konusunda yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksyonun önemli olduğu gözlenmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda bakteri uygulaması yapılmayan kontrol konusu 7,87 g/saksı ile “ef” grubuna, *B. cereus* ve *S. odorifera* uygulamalarının ise sırasıyla 9,62 ve 9,43 g/saksı ile

“a”ve “ab” gruplarına girdikleri belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 7,07 g/ saksı ile “g-k” grubunda yer alırken *B. cereus* *S. odorifera*, uygulamaları sırasıyla 7,40, 7,43, ile “e-i” gruplarında yer alırken *L. amnigena* ve *A. aralaitensis* uygulamaları ise sırasıyla 7,65, 7,42 ile “e-g” ve “e-h” gruplarında yer aldıkları saptanmıştır. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 6,00 g/saksı ile “m” grubuna yer alırken, *A. aralaitensis* uygulamasının 7,06 g/saksı ile “g-l” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ile bakteri uygulamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı belirlenmiştir.

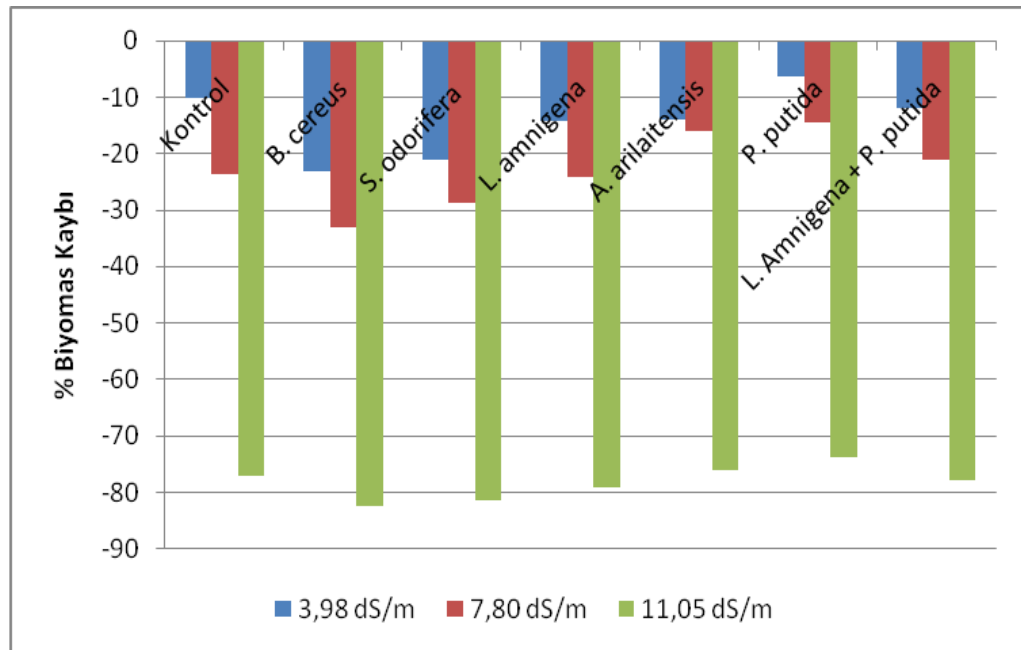
Tablo 3.8. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki yetiştirilen buğdayın biyomas tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	7,77 ef	7,07 gfijk	6,00 m	1,8 n	5,68
<i>B. cereus</i>	9,62 a	7,4 efghi	6,45 lm	1,7 n	6,29
<i>S. odorifera</i>	9,43 ab	7,43 efghi	6,73 jkl	1,77 n	6,34
<i>L. amnigena</i>	8,94 bc	7,65 efg	6,78 ijkl	1,88 n	6,31
<i>A. aralaitensis</i>	8,43 cd	7,42 efgh	7,06 ghijkl	1,97 n	6,22
<i>P. putida</i>	7,67 efg	7,19 fghij	6,55 klm	1,95 n	5,84
<i>L. Amnigena</i> + <i>P. putida</i>	7,75 ef	6,83 hijkl	6,11 m	1,72 n	5,60
Ortalama	8,53	7,29	6,53	1,83	
D.K		% 12			

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD_{Tuz X Bakteri}: 0,62

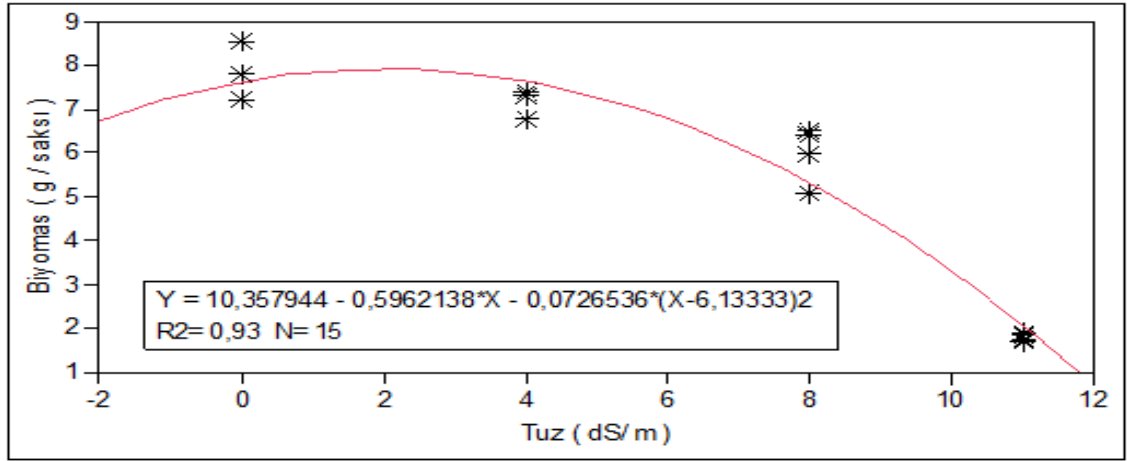
Farklı tuz konsantrasyonlarında buğdayın biyomas verimleri incelendiğinde kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına biyomasın %10, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %23 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %77 oranında azaldığı tespit edilmiştir (şekil 3.14). Bakteri uygulamalarında saksı biyomas verimlerindeki azalmaların uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına buğday verimlerinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 23, *S. odorifera* uygulamasında %21, *L. amnigena* uygulamasında %14, *A. aralaitensis* uygulamasında %13, *P. putida* uygulamasında %6 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %11 oranında

azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda saksı başına buğday biyomas miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 32, *S. odorifera* uygulamasında %28, *L. amnigena* uygulamasında %24, *A. arilaitensis* uygulamasında %16, *P. putida* uygulamasında %14 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %21 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre buğday biyomasındaki azalmanın uygulamalara bağlı olarak %71-82 aralığında değiştiği saptanmıştır.



Şekil 3.14. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday biyomasının % azalış oranları

Biyomas ile tuz konsantrasyonları arasında yapılan regresyon analizi sonucunda tuz konsantrasyonları ile biyomas verimi arasındaki ilişkinin önemli % 95 düzeyinde önemli olduğu ve R^2 değerinin 0,93 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayın biyomas verimleri ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

3.5.4. Yaprak prolin içeriği

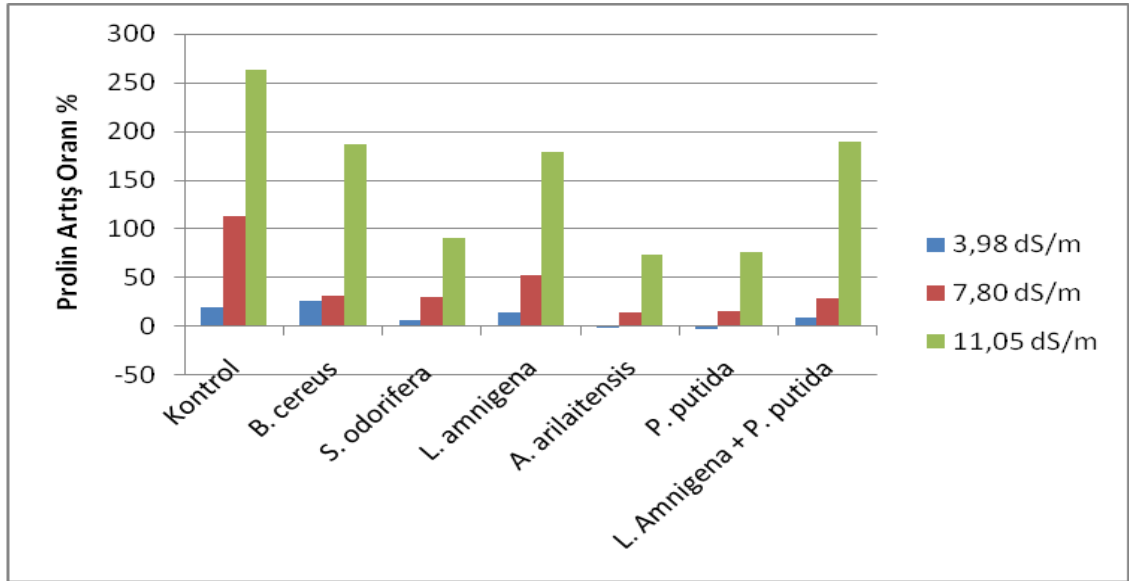
Saksı denemelerinde buğday yapraklarında prolin miktarı belirlenmiştir. Prolin analizi 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve sonuçlar $\mu\text{mol/g}$ olarak tablo 3.9' da sunulmuştur. Yapılan analiz sonucunda elde edilen veriler kullanılarak % değişim oranı belirlenerek şekil 3.15' de sunulmuştur. Kontrol Uygulamaları ile tuz seviyeleri arasındaki ilişki regresyon grafiği ile şekil 3.16' de gösterilmiştir.

Tablo 3.9. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Prolin ($\mu\text{mol/g}$) içeriği tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	0,82 ı	0,98 hı	1,68 c	2,87 a	1,58
<i>B. cereus</i>	0,84 ı	1,01 hı	1,11 fgh	2,41 b	1,34
<i>S. odorifera</i>	0,84 ı	1,00 hı	1,23 defg	1,45 cd	1,16
<i>L. amnigena</i>	0,83 ı	0,95 hı	1,27 defg	2,32 b	1,34
<i>A. arilaitensis</i>	0,83 ı	0,81 ı	1,02 ghı	1,42 cde	1,01
<i>P. putida</i>	0,85 ı	0,85 ı	1,07 ghı	1,33 def	1,07
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	0,84 ı	0,92 hı	1,08 fghı	2,43 b	1,32
Ortalama	0,84	0,96	1,12	2,03	
D.K			%12		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD_{Tuz X Bakteri}: 0,28

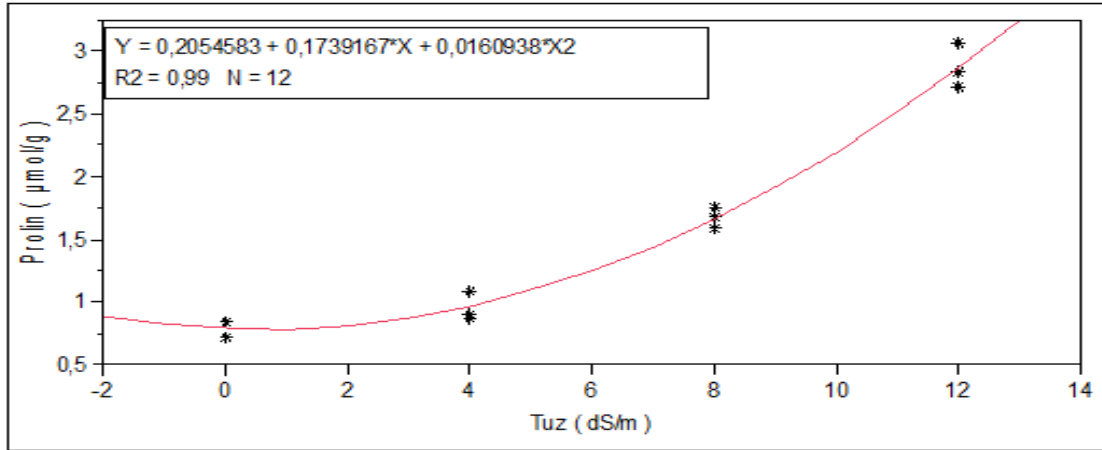
Yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonun yaprak prolin miktarı üzerinde önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.9). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ve bakteri uygulamaları arasında istatistiksel olarak fark bulunamamış ve tüm uygulamaların “ı” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 0,98 $\mu\text{mol/g}$ ile “h” grubunda yer alırken *A. aralatitensis* ve *P. putida* uygulamalarının 0,81 $\mu\text{mol/g}$ ve 0,85 $\mu\text{mol/g}$ ile “ı” grubunda yer aldıkları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 1,68 $\mu\text{mol/g}$ ile “c” grubunda yer alırken, *A. aralatitensis* ve *P. putida* uygulamalarının 1,02 $\mu\text{mol/g}$ ve 1,07 $\mu\text{mol/g}$ ile kontrol grubu ve diğer uygulamalardan daha az prolin miktarına sahip olarak “g-ı” grubunda yer aldıkları saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol grubu 2,87 $\mu\text{mol/g}$ ile “a” grubunda yer alırken, *P. putida* uygulamasının 1,33 $\mu\text{mol/g}$ ile “d-f” grubunda yer alarak en düşük prolin miktarına sahip uygulama olduğu saptanmıştır.



Şekil 3.16. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının prolin içeriği % artış grafiği

Farklı tuz konsantrasyonlarda yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan prolin miktarı belirlendiğinde, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak prolin miktarının %20, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %112 ve 11,05 dS/m

tuz konsantrasyonunda ise %263 oranında arttığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak prolin miktarları üzerindeki etkilerinin uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak prolin içeriği 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 26, *S. odorifera* uygulamasında %6, *L. amnigena* uygulamasında %14, *A. arilaitensis* uygulamasında %0,12, *P. putida* uygulamasında %0 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %9 oranında arttığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak prolin içeriği 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 32, *S. odorifera* uygulamasında %30, *L. amnigena* uygulamasında %53, *A. arilaitensis* uygulamasında %14, *P. putida* uygulamasında %15 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %28 oranında arttığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 186, *S. odorifera* uygulamasında %90, *L. amnigena* uygulamasında %179, *A. arilaitensis* uygulamasında %73, *P. putida* uygulamasında %76 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %189 oranında arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.16).



Şekil 3.17. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan prolin miktarı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

Yapılan analiz sonucunda yaprak prolin miktarı ve tuz konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunduğu ve bu ilişkinin R^2 değerinin 0,99 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.17).

3.5.5. Yaprak malondialdehit (MDA) içeriği

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki MDA miktarı nmol / ml cinsinden hesaplanarak tablo 3.10’da sunulmuştur. Yaprak MDA içeriğinin % değişim grafiği şekil 3.17’de, regresyon grafiği ise şekil 3.18’de sunulmuştur.

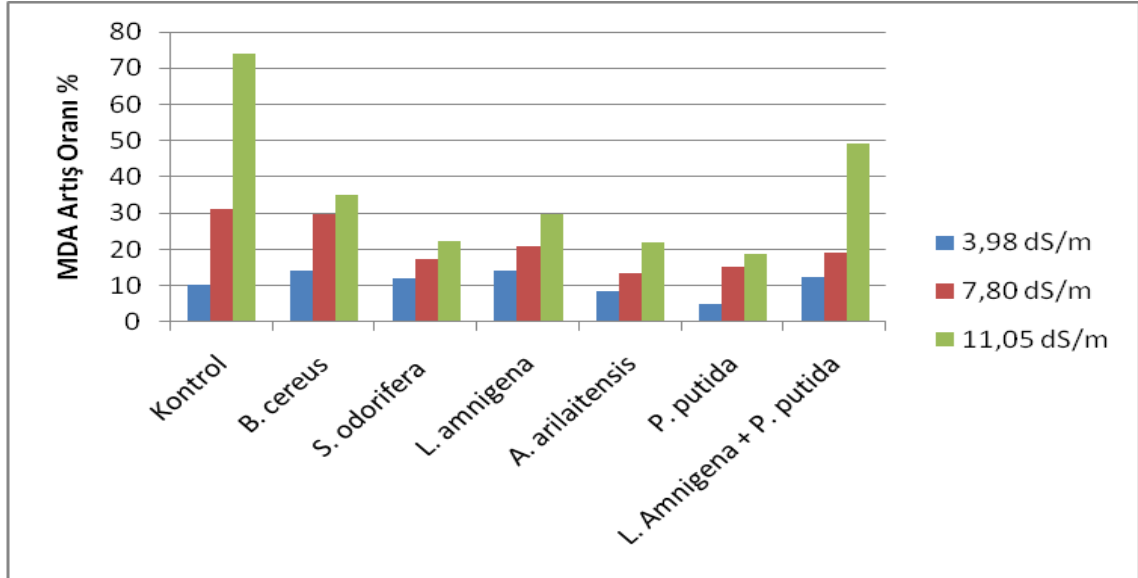
Tablo 3.10. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MDA (nmol / ml) içeriği tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	0,57 g	0,64 efg	0,76 c	1,01 a	0,77
<i>B. cereus</i>	0,57 g	0,65 efg	0,74 cd	0,77 c	0,67
<i>S. odorifera</i>	0,58 g	0,65 efg	0,68 def	0,73 cde	0,66
<i>L. amnigena</i>	0,57 g	0,65 efg	0,69 def	0,74 cd	0,65
<i>A. arilaitensis</i>	0,59 g	0,64 efg	0,67 def	0,72 cde	0,66
<i>P. putida</i>	0,59 g	0,62 fg	0,68 def	0,74 cde	0,65
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	0,57 g	0,64 efg	0,67 def	0,85 b	0,68
Ortalama	0,56	0,64	0,69	0,80	
D.K			% 6		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD Tuz X Bakteri: 0,097

Yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonun yaprak MDA içeriği üzerinde önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.10). Yapılan istatistiki analizler sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 0,57 nmol/ml ile “g” grubunda yer alırken, bakteri uygulamaları ile arasında herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 0,64 nmol/ml ile “e-g” grubunda yer alırken *P. putida* uygulaması 0,62 nmol/ml ile “fg” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 0,76 nmol/ml ile “c” grubunda yer alırken, *S. odorifera*, *L. amnigena*, *A. arilaitensis* *P. Putida* ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamaları uygulamaları kontrol grubundan daha az MDA miktarına sahip olarak “d-f” grubunda yer aldıkları saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol grubu 1,01 nmol/ml ile “a” grubunda yer alırken, *S. odorifera*, *L. amnigena*, *A. arilaitensis* *P.*

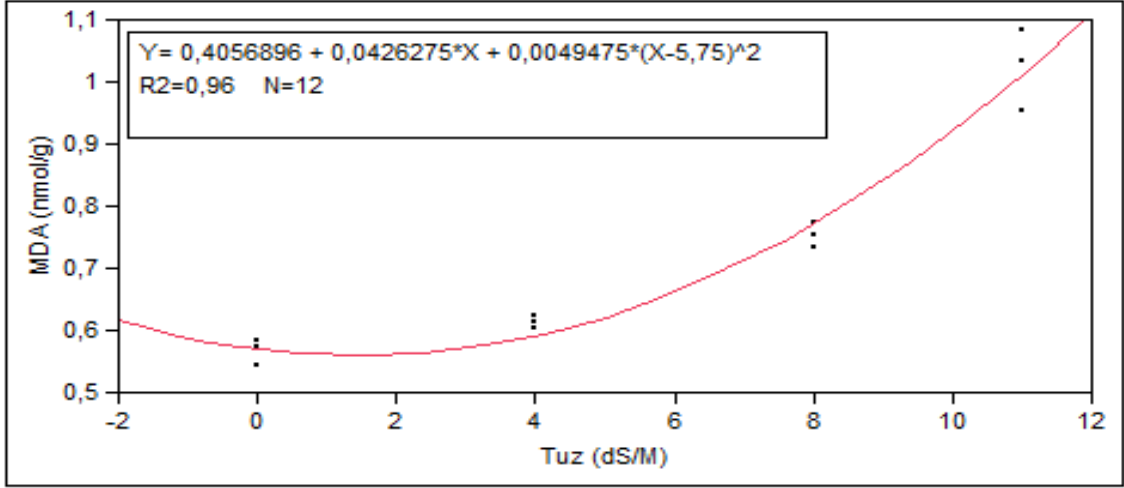
Putida uygulamaları “c-e” grubunda yer alarak kontrol konusundan daha düşük prolin miktarına sahip uygulamalar oldukları belirlenmiştir.



Şekil 3.18. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MDA içeriği % artışı grafiği

Buğday yapraklarında bulunan MDA miktarı belirlendiğinde, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak prolin miktarının %12, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %33 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %74 oranında arttığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak MDA miktarları üzerinde uygulamalara bağlı olarak farklı etkiler gösterdikleri belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak MDA miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 14, *S. odorifera* uygulamasında %12, *L. amnigena* uygulamasında %14, *A. arilaitensis* uygulamasında %8, *P. putida* uygulamasında %5 ve *L. amnigena & P. putida* uygulamasında ise %12 oranında arttığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak MDA içeriğinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 29, *S. odorifera* uygulamasında %17, *L. amnigena* uygulamasında %21, *A. arilaitensis* uygulamasında %13, *P. putida* uygulamasında %15 ve *L. amnigena & P. putida* uygulamasında ise %19 oranında arttığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak MDA miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %35, *S. odorifera* uygulamasında

%22, *L. amnigena* uygulamasında %27, *A. arilaitensis* uygulamasında %23, *P. putida* uygulamasında %18 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında %48 oranında arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.18).



Şekil 3.19. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan MDA miktarı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

Yapılan regresyon analizi sonucunda yaprak MDA içeriği ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve R² değerinin 0,96 olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.19)

3.6.6. Membran stabilite indeksi (%MSİ)

Buğday yapraklarında % MSİ oranı yapraklardaki iyon sızıntılarının ölçülmesiyle hesaplanmış ve tablo 3.11’de sunulmuştur. MSİ oranları üzerinde hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.19’da, %MSİ ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.20’de sunulmuştur.

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yapraklarında yapılan MSİ analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonunun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.11). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu dahil tüm bakteri uygulamalarının “a” grubuna girdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %77,94 ile “c-e” grubunda yer alırken *S. odorifera*, *L. amnigena*, ve *P. putida* uygulamalarının sırasıyla %80,85, %80,25, ve %80,95 ile “b-d” grubunda yer

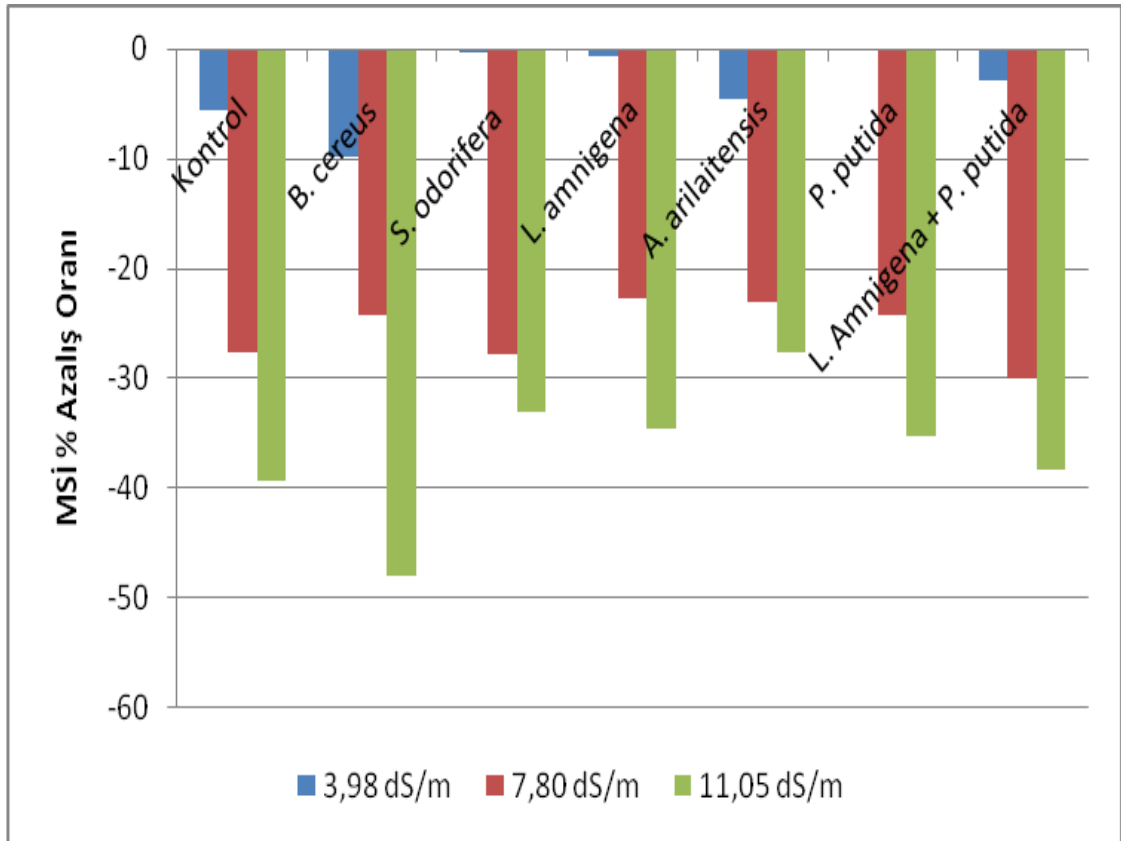
olarak diğer uygulamalardan daha yüksek MSİ değerine sahip oldukları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %59,76 ile “gh” grubuna yer alırken, *A. aralatitensis* uygulamasının %64,62 ile “f” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %50,19 MSİ değeri ile “l” grubunda yer alırken *A. aralatitensis* uygulamasının % 60,95 ile “g” grubunda yer alarak diğer bakteri uygulamaları ve kontrol grubundan daha yüksek MDA değerine sahip olduğu saptanmıştır.

Tablo 3.11. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MSİ (%) tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	82,51 abcd	77,94 cde	59,76 gh	50,09 l	67,58
<i>B. cereus</i>	83,37 a	75,22 e	60,1 gh	49,33 l	67,2
<i>S. odorifera</i>	81,61 abcd	80,85 bcd	58,16 hı	53,93 jk	69,38
<i>L. amnigena</i>	81,78 abcd	80,25 bcd	63,2 fg	53,57 jkl	70,7
<i>A. arilaitensis</i>	83,94 abcd	80,15 bcde	64,62 f	60,95 g	72,41
<i>P. putida</i>	82,96 abcd	80,95 bcd	63,55 fg	53,5 jk	70,2
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	81,6 abcd	79,24 cde	59,46 gh	50,36 kl	67,05
Ortalama	82,68	80,44	60,06	52,53	
D.K			% 15		
p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD _{Tuz X Bakteri} : 0,28 Verilere transformasyon uygulanmıştır					

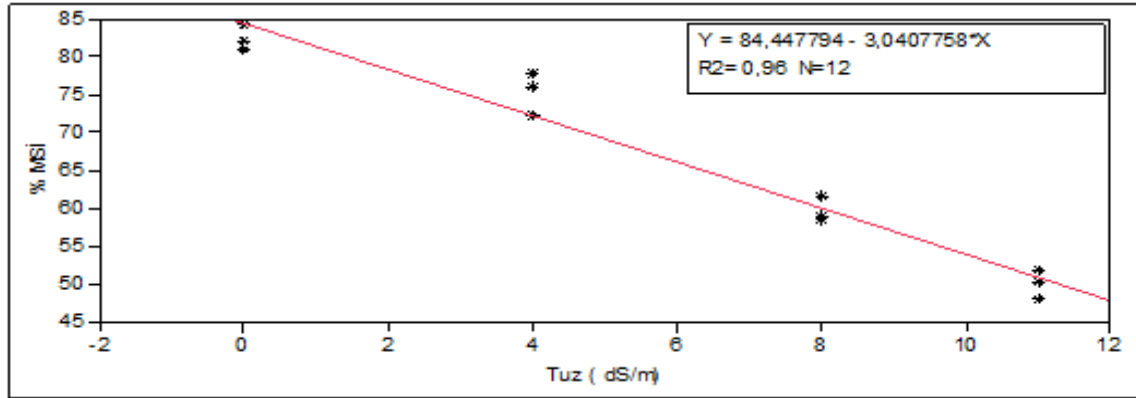
Farklı konsantrasyonlarda buğdayın MSİ değerleri incelendiğinde kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda MSİ oranının %5, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %27 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %39 oranında azaldığı tespit edilmiştir. Bakteri uygulamalarında % MSİ oranlarının uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda MSİ oranlarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 9, *S. odorifera* uygulamasında %0,2, *L. amnigena* uygulamasında %6, *A. arilaitensis* uygulamasında %0,4, *P. putida* uygulamasında %0,1 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %3 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %MSİ değerlerinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus*

uygulamasında % 24, *S. odorifera* uygulamasında %27, *L. amnigena* uygulamasında %22, *A. arilaitensis* uygulamasında %23, *P. putida* uygulamasında %24 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %30 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise MSİ değerlerinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 48, *S. odorifera* uygulamasında %33, *L. amnigena* uygulamasında %34, *A. arilaitensis* uygulamasında %27, *P. putida* uygulamasında %35 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında %38 oranında azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.20).



Şekil 3.20. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının MSİ oranlarının % azalış grafiği

Yapılan regresyon analizi sonucunda farklı tuz konsantrasyonlarında geliştirilen buğday yapraklarındaki % MSİ oranları ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve R^2 değerinin 0,96 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.21).



Şekil 3.21. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında %MSİ oranı ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

3.5.7. Yaprak karotenoid içeriği

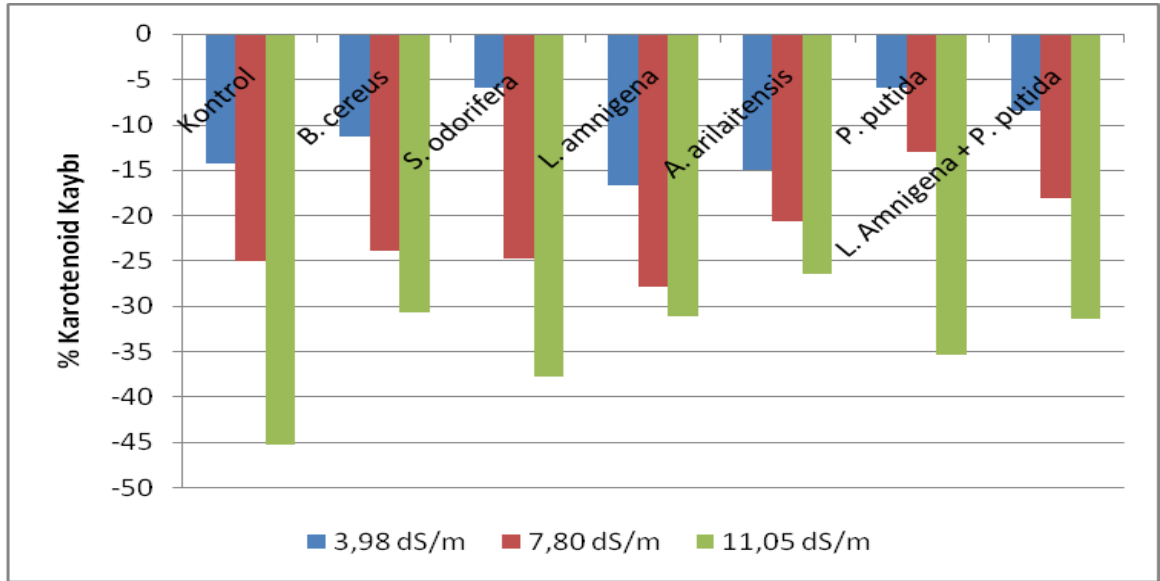
Yaprak örneklerinde yapılan analiz sonucu bulunan karotenoid miktarı (mg/g) tablo 3.12’de, bu veriler yardımı ile hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.21’de ve karotenoid miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.22’de sunulmuştur.

Tablo 3.12. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının karotenoid (mg/g) içeriği tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	0,84	0,72	0,63	0,46	0,66 b
<i>B. cereus</i>	0,88	0,78	0,67	0,61	0,70 ab
<i>S. odorifera</i>	0,85	0,8	0,64	0,53	0,74 a
<i>L. amnigena</i>	0,9	0,75	0,65	0,62	0,73 a
<i>A. arilaitensis</i>	0,87	0,74	0,69	0,64	0,73 a
<i>P. putida</i>	0,85	0,80	0,74	0,55	0,74 a
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	0,83	0,76	0,68	0,52	0,71 ab
Ortalama	86 a	76 b	67 c	56 d	
D.K			8%		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri^{OD} LSD_{Tuz} : 0,036 LSD_{Bakteri} : 0,050

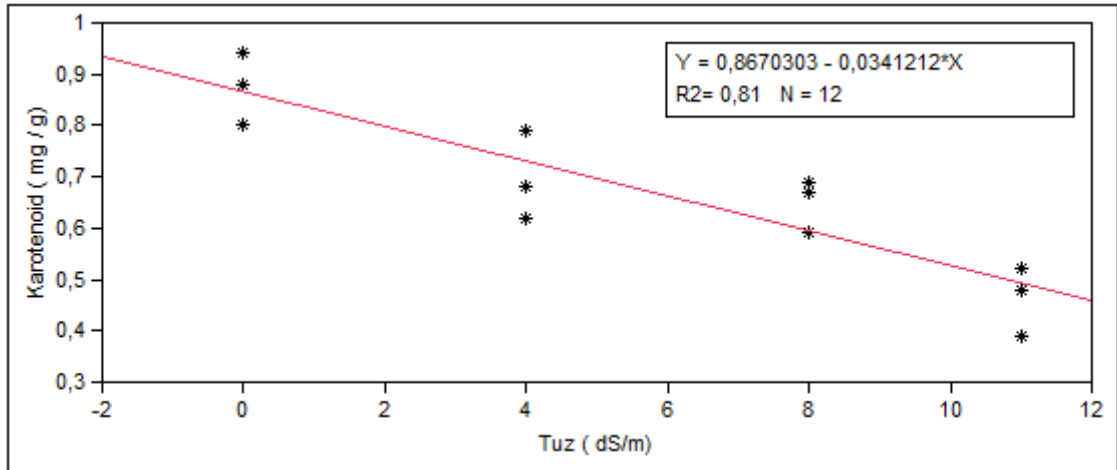
Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yapraklarında bulunan karotenoid miktarına ait analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının ve bakteri uygulamalarının önemli olduğu, tuz x bakteri interaksiyonun ise önemsiz olduğu saptanmıştır (Tablo 3.12). Yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre hiçbir bakteri uygulamasının yapılmadığı kontrol konusu 0,66 mg/g ile “b” grubunda yer alırken *B. cereus* ve *L. Amnigena* & *P. putida* Uygulamaları 0,70 mg/g ile “bc” grubunda yer almışlardır. *L. amnigena*, *A. arilaitensis* *P. putida*, ve *S. odorifera* uygulamaları arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamamış ve “a” grubuna girdikleri saptanmıştır. Buğday yapraklarında bulunan karotenoid miktarları üzerinde tuz uygulamalarının etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak karotenoid miktarı 0,86 mg/g ile “a” grubunda yer alırken, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,76 mg/g ile “b” grubunda, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,67 mg/g ile “c” grubunda ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,56 mg/g ile “d” grubunda yer aldığı saptanmıştır.



Şekil 3.22. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının karotenoid miktarlarının % azalış grafiği

Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan karotenoid miktarı belirlendiğinde, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak karotenoid içeriğinin %14, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %25 ve 11,05

dS/m tuz konsantrasyonunda ise %45 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak karotenoid miktarları üzerindeki etkilerinin uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak karotenoid miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 11, *S. odorifera* uygulamasında %5, *L. amnigena* uygulamasında %16, *A. arilaitensis* uygulamasında %14, *P. putida* uygulamasında %5 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %8 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak karotenoid içeriğinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 23, *S. odorifera* uygulamasında %24, *L. amnigena* uygulamasında %27, *A. arilaitensis* uygulamasında %20, *P. putida* uygulamasında %12 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %18 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak karotenoid miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %30, *S. odorifera* uygulamasında %38, *L. amnigena* uygulamasında %31, *A. arilaitensis* uygulamasında %26, *P. putida* uygulamasında %35 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında %31 oranında azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.22).



Şekil 3.23. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında karotenoid miktarları ile tuz konsantrasyonları ilişkisi

Yapılan regresyon analizi sonucunda karotenoid miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve R^2 değerinin 0,81 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.23).

3.5.8. Yaprak % Sodyum (Na) içeriği

Yaprak örneklerinde yapılan analiz sonucu bulunan Na miktarı (%) tablo 3.13’de, bu veriler yardımı ile hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.23’de ve Na miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.24’de sunulmuştur.

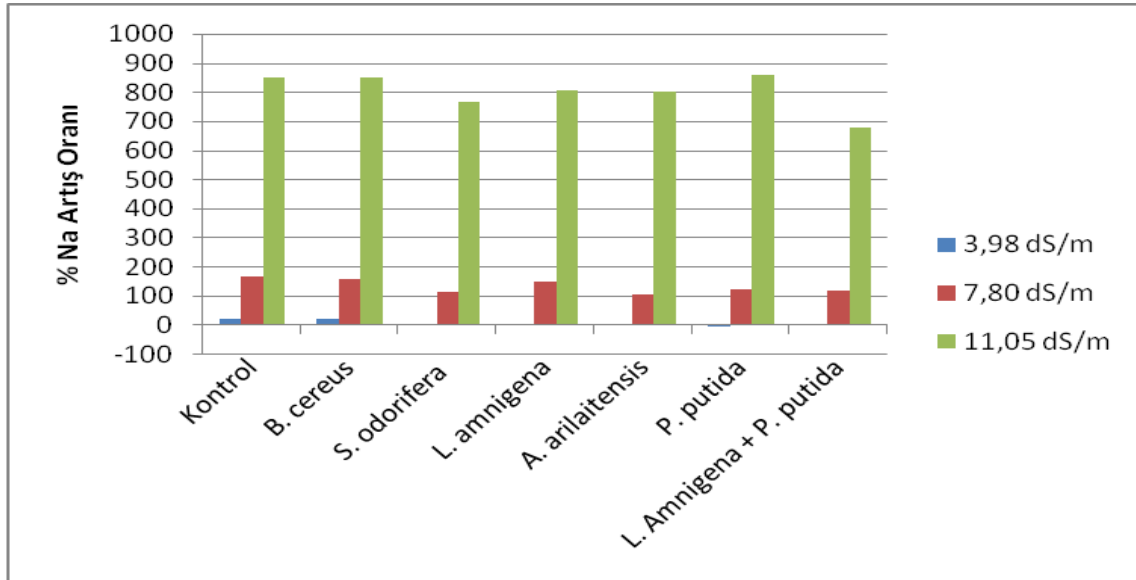
Tablo 3.13. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Na (%) içeriği tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	0,12 ı	0,15 h	0,32 e	1,14 a	0,43
<i>B. cereus</i>	0,12 ı	0,15 h	0,31 e	1,14 a	0,43
<i>S. odorifera</i>	0,12 ı	0,12 ı	0,26 fg	1,09 bc	0,39
<i>L. amnigena</i>	0,12 ı	0,12 ı	0,3 e	1,09 bc	0,41
<i>A. arilaitensis</i>	0,12 ı	0,12 ı	0,25 g	1,06 c	0,39
<i>P. putida</i>	0,12 ı	0,11 ı	0,27 f	1,15 a	0,41
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	0,12 ı	0,14 h	0,31 e	1,09 bc	0,42
Ortalama	0,12	0,13	0,3	1,05	
D.K			% 4		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD Tuz X Bakteri : 0,015 Verilere transformasyon uygulanmıştır.

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yapraklarındaki Na miktarı belirlendiğinde tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksyonun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.13). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ve bakteri uygulamalarının tamamının “ı” grubuna girerek istatistiksel açıdan farklı olmadıkları saptanmıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %0,15 ile “h” grubunda yer alırken *S. odorifera*, *L. amnigena*, *A. aralaitensis* ve *P. putida* uygulamaları sırasıyla %0,12, %0,12, %0,12 ve %0,11 ile “ı” grubunda yer aldıkları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %0,32 ile “e” grubuna yer alırken, *A. aralaitensis* uygulamasının %0,25 ile “g” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu %1,14 yaprak Na içeriği ile “a” grubunda yer alırken *A. aralaitensis* uygulamasının % 1,06 ile “c” grubunda yer alarak diğer bakteri uygulamaları ve kontrol grubundan daha düşük yaprak Na içeriğine sahip olduğu

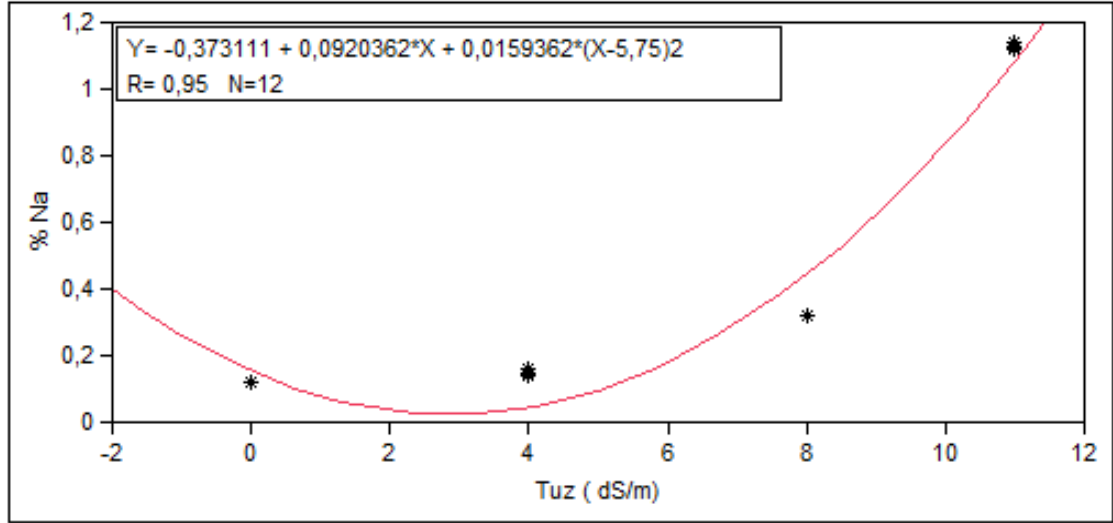
saptanmıştır. Tuz uygulamalarının ortalamaları dikkate alındığında 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Na içeriğinin %0,12, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %0,13, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %0,30, 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %1,05 olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.24. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarının Na içeriğinin % artış grafiği

Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan Na miktarları karşılaştırıldığında, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Na miktarının %25, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %166 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %826 oranında arttığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının etkilerinin yaprak Na içeriği üzerinde uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Na miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 25, *S. odorifera* uygulamasında %0, *L. amnigena* uygulamasında %0, *A. arilaitensis* uygulamasında %0, *P. putida* uygulamasında %0 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %0 oranında arttığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Na içeriğinin 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %158, *S. odorifera* uygulamasında %116, *L. amnigena* uygulamasında %150, *A. arilaitensis* uygulamasında %108, *P. putida* uygulamasında %125 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %121

oranında arttığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Na miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %850, *S. odorifera* uygulamasında %770, *L. amnigena* uygulamasında %808, *A. arilaitensis* uygulamasında %783, *P. putida* uygulamasında %858 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında %808 oranında arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.24).



Şekil 3.25. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Na miktarı ile tuz konsantrasyonlarının ilişkisi

Yapılan regresyon analizi sonucunda Yaprak %Na miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkinin önemli olduğu ve R^2 değerinin 0,95 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.25).

3.5.9. Yaprak K / Na oranı

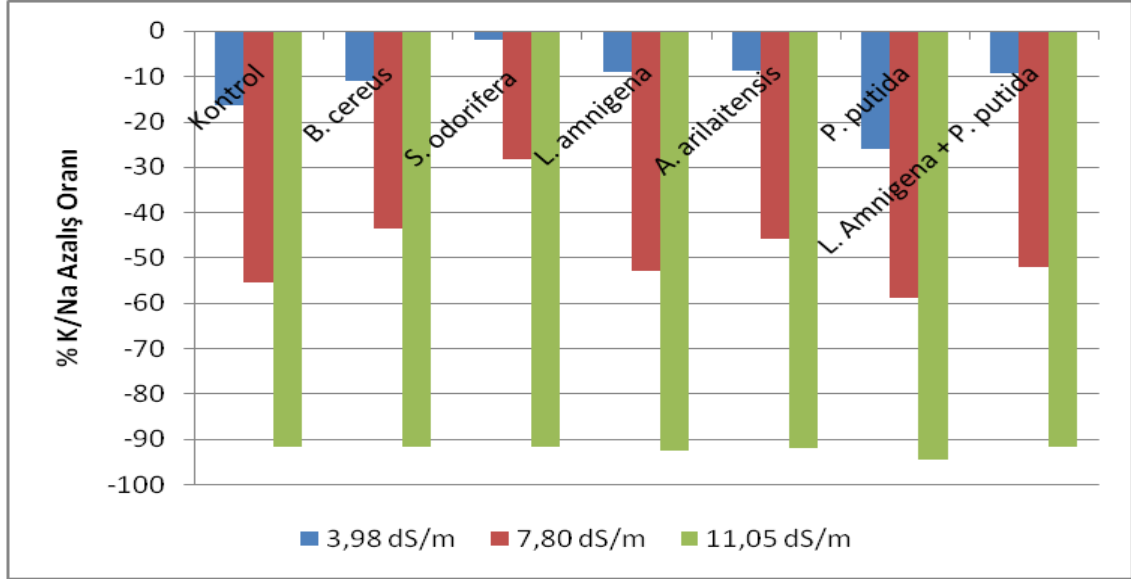
Yaprak örneklerinde yapılan potasyum ve sodyum analizleri sonucu hesaplanan K/Na oranı tablo 3.14'de, bu veriler yardımı ile hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.25'de ve K/Na oranı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.26'de sunulmuştur.

Tablo 3.14. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	16,78 fg	14,03 j	7,49 n	1,43 o	9,94
<i>B. cereus</i>	16,75 fg	14,75 ij	9,34 lm	1,40 o	10,48
<i>S. odorifera</i>	18,05 de	17,68 efg	9,93 l	1,51 o	12,38
<i>L. amnigena</i>	19,01 cd	17,29 efg	8,99 lm	1,43 o	11,68
<i>A. arilaitensis</i>	21,55 b	19,66 c	11,68 k	1,75 o	13,66
<i>P. putida</i>	24,05 a	17,82 def	9,89 l	1,42 o	13,3
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	17,03 efg	15,45 hı	8,19 mn	1,45 o	10,53
Ortalama	19	16,67	9,7	1,47	
D.K		% 6			

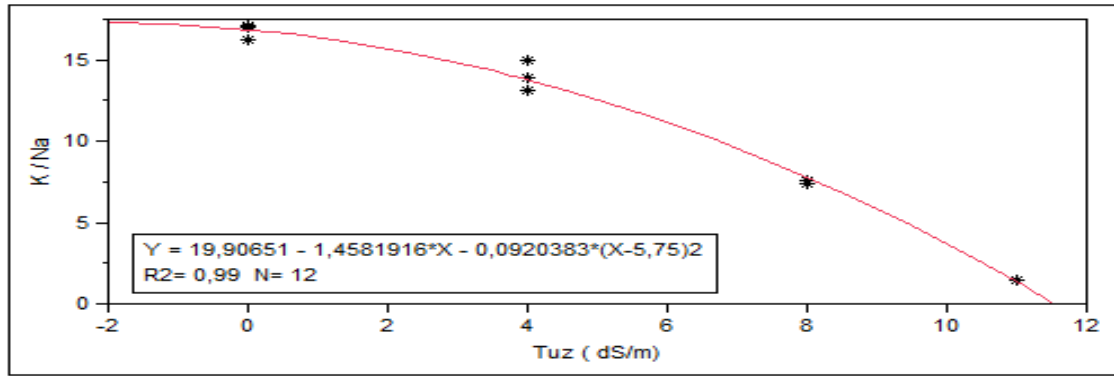
p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD_{Tuz X Bakteri} : 1,25

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yapraklarındaki analizler sonucunda K/Na oranı belirlendiğinde tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksyonun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.14). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusunun 16,78 ile “fg” grubunda yer aldığı belirlenirken, bakteri uygulamalarından *A. arilaitensis* 21,55 ile “b” *P. putida* ise 24,05 ile “a” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 14,03 ile “j” grubunda yer alırken, *A. aralaitensis* uygulamasının 19,66 K/Na oranı “c” grubunda yer alarak diğer uygulamalardan daha az miktarda K/Na oranına sahip olduğu saptanmıştır. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 7,49 ile “n” grubuna yer alırken, *A. aralaitensis* uygulaması 11,68 K/Na oranı ile “k” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ve bakteri uygulamaları arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir.



Şekil 3.26. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı % azalış grafiği

Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan K/Na oranları karşılaştırıldığında, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak K/Na oranının %16, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %55 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %91 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak K/Na oranı üzerindeki etkilerinin uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak K/Na oranının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 10, *S. odorifera* uygulamasında %2, *L. amnigena* uygulamasında %9, *A. arilaitensis* uygulamasında %8, *P. putida* uygulamasında %25 ve *L. amnigena + P. putida* uygulamasında ise %9 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak K/Na oranının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %43, *S. odorifera* uygulamasında %28, *L. amnigena* uygulamasında %52, *A. arilaitensis* uygulamasında %45, *P. putida* uygulamasında %58 ve *L. amnigena & P. putida* uygulamasında ise %51 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak K/Na oranı 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %91, *S. odorifera* uygulamasında %91, *L. amnigena* uygulamasında %91, *A. arilaitensis* uygulamasında %91, *P. putida* uygulamasında %94 ve *L. amnigena + P. putida* uygulamasında %91 oranında azaldığı saptanmıştır. (Şekil 3.26).



Şekil 3.27. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki K / Na oranı ile tuz konsantrasyonlarının ilişkisi

Buğday yapraklarında K/Na oranının tuz konsantrasyonları ile ilişki önemli bulunmuştur. Yapılan istatistiki analiz sonucunda K/Na oranının tuz konsantrasyonları ile ilişkisinin R^2 değerinin 0,99 olduğu saptanmıştır (Şekil 3.27).

3.5.10. Yaprak Ca / Na oranı

Buğday yapraklarında yapılan kalsiyum ve sodyum analizleri sonucu hesaplanan Ca/Na oranı tablo 3.15’de, bu veriler yardımı ile hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.27’de ve Ca/Na oranı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.27’de sunulmuştur.

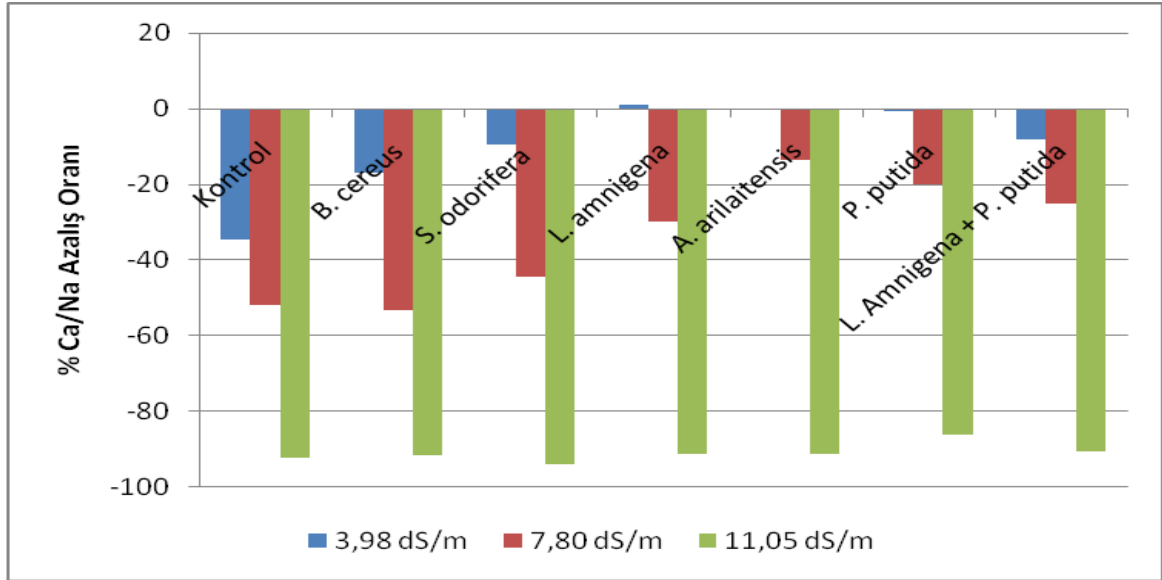
Tablo 3.15. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca/ Na oranı tablosu

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	6,40 ab	4,48 def	3,17 g	0,50 h	3,64
<i>B. cereus</i>	6,29 ab	4,51 de	3,14 g	0,50 h	3,58
<i>S. odorifera</i>	6,30 ab	5,33 c	4,03 ef	0,49 h	4,03
<i>L. amnigena</i>	6,59 a	5,97 b	4,03 ef	0,51 h	4,29
<i>A. arilaitensis</i>	6,30 ab	5,94 b	5,17 c	0,55 h	4,35
<i>P. putida</i>	6,32 ab	5,33 c	4,60 d	0,61 h	4,23
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	6,38 ab	4,89 cd	4,00 f	0,50 h	3,94
Ortalama	6,34	5,13	4,02	0,53	
D.K			%12		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD_{Tuz X Bakteri} : 0,14

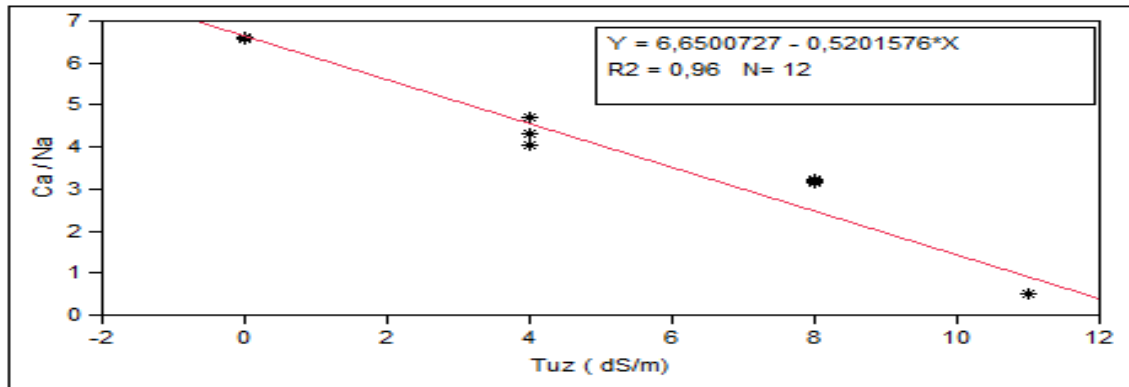
Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yapraklarında yapılan analizler sonucunda yaprak Ca ve Na içerikleri belirlenerek Ca/Na oranı hesaplanmış ve analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.15). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu dahil tüm bakteri uygulamalarının “a” grubuna girdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 4,48 Ca/Na oranı ile “d” grubunda yer alırken *L. amnigena*, uygulamasının 5,97 Ca/Na oranı ile “b” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 3,17 Ca/Na oranı ile “g” grubuna yer alırken, *A. aralaitensis* uygulamasının 5,17 ile “c” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ile bakteri uygulamaları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır.

Buğday yapraklarında yapılan analizler sonucunda yapraklarda bulunan Ca ve Na miktarı belirlenmiş ve Ca/Na oranının % değişim tablosu hesaplanarak şekil 3.28 verilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda yetiştirilen buğday yapraklarında bulunan Ca/Na oranı karşılaştırıldığında, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Ca/Na oranının %30, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %50 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %92 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak Ca/Na oranı üzerindeki etkilerinin uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Ca/Na oranının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 85, *S. odorifera* uygulamasında %15, *L. amnigena* uygulamasında %9, *A. aralaitensis* uygulamasında %14, *P. putida* uygulamasında %15 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %16 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda yaprak Ca/Na oranının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %50, *S. odorifera* uygulamasında %36, *L. amnigena* uygulamasında %38, *A. aralaitensis* uygulamasında %17, *P. putida* uygulamasında %27 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %37 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %92, *S. odorifera* uygulamasında %92, *L. amnigena* uygulamasında %92, *A. aralaitensis* uygulamasında %91, *P. putida* uygulamasında %90 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %92 oranında azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 3.28. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca / Na oranı % azalış grafiği

Yaprak Ca/Na oranı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişki incelendiğinde, aralarındaki ilişkinin önemli olduğu ve regresyon katsayısının 0,96 olduğu saptanmıştır (şekil 3.29).



Şekil 3.29. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Ca / Na oranı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi

3.5.11. Toprak alkalin fosfataz enzim aktivitesi

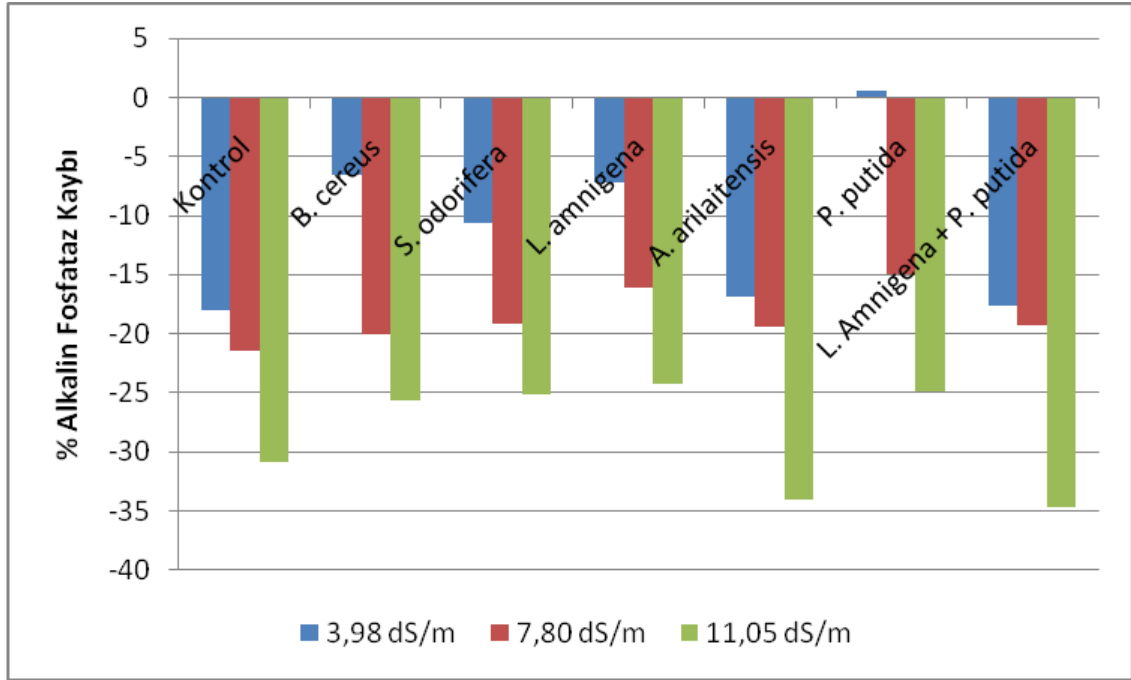
Saksı topraklarında yapılan alkalin fosfataz enzim analizi sonucunda topraklarda bulunan enzim miktarı tablo 3.16'da, bu veriler kullanılarak hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.29'da ve alkalin fosfataz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.30'da sunulmuştur.

Tablo 3.16. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enzim miktarı

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	189,13bc	163,15 efg	156,36 efgh	137,68 ı	164,08
<i>B. cereus</i>	182,50 cd	160,43 efg	145,89 ghı	135,8 ı	169,66
<i>S. odorifera</i>	182,73 cd	163,27 efg	157,63 efg	136,73 ı	155,5
<i>L. amnigena</i>	203,15 ab	188,62 bcd	170,43 def	151,86 gh	178,98
<i>A. arilaitensis</i>	214,67 a	174,10 de	164,93 efg	136,02 ı	173,18
<i>P. putida</i>	200,68 ab	191,80 bc	170,68 def	150,89 gh	184,02
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	190,50 bcd	156,87 efghı	153,68 fgh	134,56 ı	160,04
Ortalama	196,17	182,47	158,2	140,5	
D.K			%14		

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD Tuz X Bakteri: 18,87

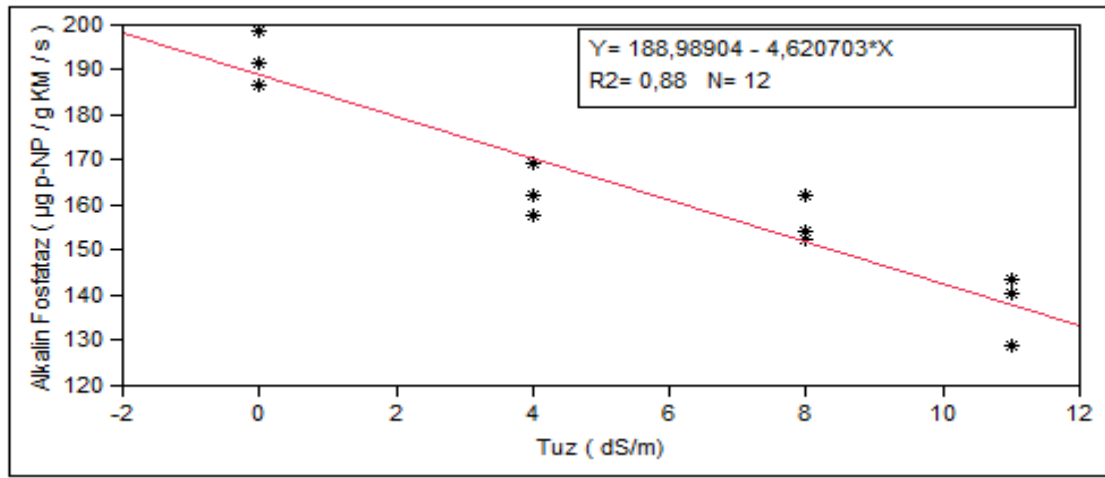
Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdayların yetiştirildiği topraklarda yapılan analizler sonucunda toprakta bulunan alkalın fosfataz enzim miktarı belirlenmiş ve buna göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonunun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.16). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu ve *L. amnigena*, *A. arilaitensis*, *P. putida* bakteri uygulamalarını sırasıyla 199,13 µg p-NP / g KM / saat, 2015,15 µg p-NP / g KM / saat, 214,67 µg p-NP / g KM / saat, ve 200,68 µg p-NP / g KM / saat ile “a” grubunda yer alırken, *B. cereus* uygulaması 182,50 µg p-NP / g KM / saat ile “cd” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 163,15 µg p-NP / g KM / saat ile “e-g” grubunda yer alırken *L. amnigena*, ve *P. putida* uygulamalarının sırasıyla 182,66 µg p-NP / g KM / saat ve 191,80 µg p-NP / g KM / saat ile “b-d” ve “bc” gruplarında yer aldıkları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 156,36 µg p-NP / g KM / saat ile “e-h” grubuna yer alırken, *P. putida* uygulamasının 170,68 ile “d-f” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusunun 137,68 µg p-NP / g KM / saat ile “ı” grubunda yer aldığı belirlenirken, *L. amnigena*, ve *P. putida* uygulamaları sırasıyla 151,86 µg p-NP / g KM / saat ve 150,89 µg p-NP / g KM / saat ile “gh” grubunda yer aldıkları saptanmıştır.



Şekil 3.30. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enziminin % değişim grafiği

Saksı topraklarında yapılan analizler sonucunda alkalın fosfataz miktarı belirlenmiş ve alkalın fosfataz miktarının % değişim tablosu hesaplanmıştır (şekil 3.30). Topraklarda bulunan alkalın fosfataz miktarı karşılaştırıldığında, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda alkalın fosfataz miktarının %16, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %21 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %30 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının etkilerinin toprak alkalın fosfataz enzim miktarı üzerinde uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda toprak alkalın fosfataz miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 6, *S. odorifera* uygulamasında %10, *L. amnigena* uygulamasında %7, *A. arilaitensis* uygulamasında %16, *P. putida* uygulamasında %0 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %17 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda toprakta bulunan enzim miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %20, *S. odorifera* uygulamasında %19, *L. amnigena* uygulamasında %16, *A. arilaitensis* uygulamasında %19, *P. putida* uygulamasında %14 ve *L. amnigena* + *P. putida*

uygulamasında ise %19 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda toprak alkalın fosfataz enzim miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %25, *S. odorifera* uygulamasında %25, *L. amnigena* uygulamasında %24, *A. arilaitensis* uygulamasında %33, *P. putida* uygulamasında %24 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %34 oranında azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 3.31. Farklı tuz konsantrasyonlarında bulunan topraklarındaki alkalın fosfataz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonların ilişkisi

Saksı topraklarında yapılan alkalın fosfataz enzim miktarının tuz konsantrasyonları ile ilişki önemli bulunmuştur. Yapılan istatistikî analiz sonucunda alkalın fosfataz enzim miktarının tuz konsantrasyonları ile ilişkisinin R^2 değeri 0,88 olarak saptanmıştır (şekil 3.31) .

3.5.12. Toprak β -glukosidaz enzim aktivitesi

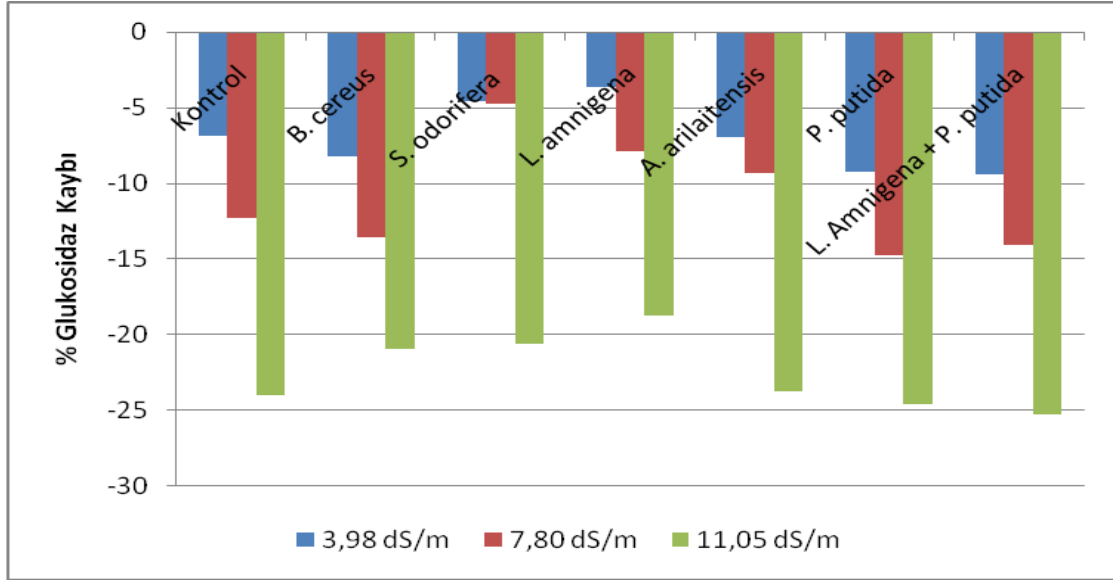
Saksı topraklarında yapılan β -glukosidaz enzim analizi sonucunda topraklarda bulunan enzim miktarı tablo 3.17’de, bu veriler kullanılarak hesaplanan % değişim grafiği şekil 3.31’de ve β -glukosidaz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon grafiği şekil 3.32’de sunulmuştur.

Tablo 3.17. Saksı topraklarındaki β -glukosidaz enzim miktarı

Uygulamalar	Tuz Konsantrasyonları				
	kontrol (0,95 dS/m)	3,98 dS/m	7,80 dS/m	11,05 dS/m	Ortalama
Kontrol	131,48 bcd	122,5 efg	115,3 ghı	100,9 l	117,545
<i>B. cereus</i>	125,37 de	115,03 ghı	108,33 ijkl	99,18 l	111,98
<i>S. odorifera</i>	125,41 de	119,69 efg	115,45 ghı	99,54 l	116,02
<i>L. amnigena</i>	125,37 de	120,81efg	115,44 ghı	101,85 l	115,87
<i>A. arilaitensis</i>	136,58 ab	127,14 cde	123,82 def	104,14 kl	122,92
<i>P. putida</i>	140,23 a	127,24 cde	119,51 efg	105,77 jkl	123,19
<i>L. amnigena</i> + <i>P. putida</i>	132,14 abc	121,53 efgh	115,27 ghı	100,28 l	117,81
Ortalama	130,00	120,18	116,73	103,53	
D.K		%15			

p<0,05 Tuz*, Bakteri*, Tuz X Bakteri * LSD Tuz X Bakteri: 8,39

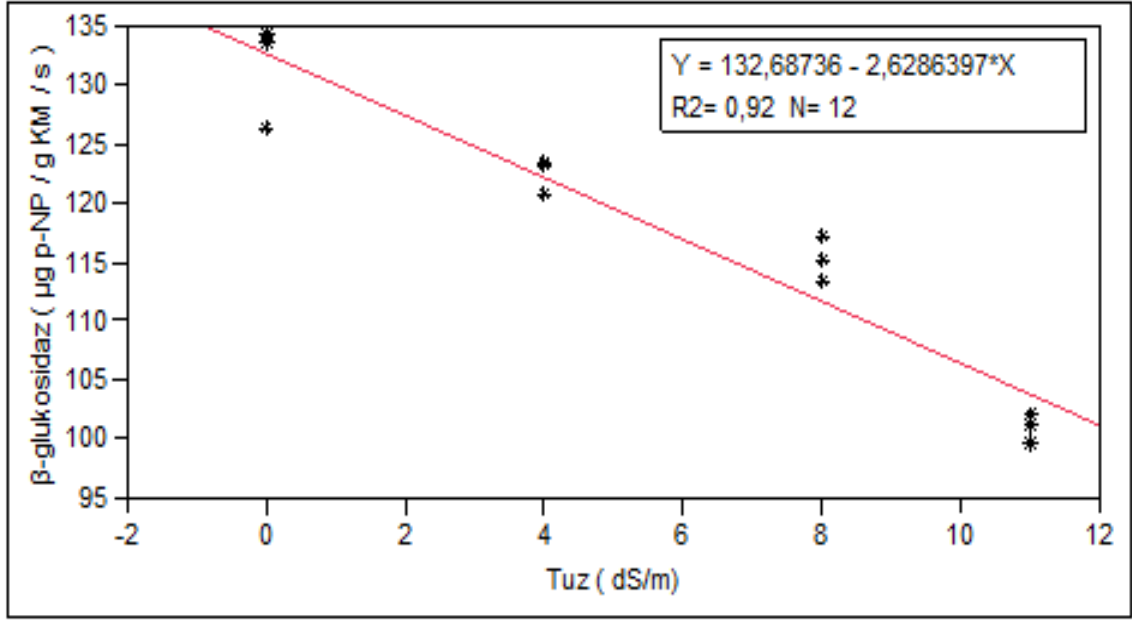
Farklı tuz konsantrasyonları içeren topraklarda yapılan analizler sonucunda toprakta bulunan β -glukosidaz enzim miktarı belirlenmiş ve analiz sonuçlarına göre tuz uygulamalarının, bakteri uygulamalarının ve tuz x bakteri interaksiyonun önemli olduğu saptanmıştır (Tablo 3.17). Yapılan istatistik analiz sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 131,48 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “b-d” grubunda yer alırken, *P.putida* uygulamasının 140,23 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “a” grubunda yer aldığı belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 122,50 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “e-g” grubunda yer alırken *A. arilaitensis*, ve *P. putida* uygulamalarının sırasıyla 127,14 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ve 127,24 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “c-e” grubunda yer aldıkları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 115,30 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “g-i” grubuna yer alırken, *A. arilaitensis* uygulamasının 123,82 ile “d-f” grubunda yer aldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 100,9 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ile “l” grubunda yer aldığı belirlenirken, *P. putida* uygulamasının 105,77 $\mu\text{g p-NP} / \text{g KM} / \text{saat}$ ve ile “j-l” grubunda yer aldığı saptanmıştır.



Şekil 3.32. Toprak β -glukosidaz miktarı % azalış grafiği

Saksı topraklarında yapılan analizler sonucunda β -glukosidaz miktarı belirlenmiş ve alkalın fosfataz miktarının % değişim tablosu hesaplanmıştır (şekil 3.32). Topraklarda bulunan β -glukosidaz miktarı karşılaştırıldığında, kontrol konusuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda β -glukosidaz miktarının %6, 7,88 dS/m tuz konsantrasyonunda %12 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %24 oranında azaldığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının etkilerinin toprak β -glukosidaz enzim miktarı üzerinde uygulamalara bağlı olarak farklılık gösterdiği belirlenmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda β -glukosidaz miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında % 8, *S. odorifera* uygulamasında %4, *L. amnigena* uygulamasında %3, *A. arilaitensis* uygulamasında %6, *P. putida* uygulamasında %9 ve *L. amnigena* & *P. putida* uygulamasında ise %9 oranında azaldığı belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda toprakta bulunan enzim miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre *B. cereus* uygulamasında %13, *S. odorifera* uygulamasında %8, *L. amnigena* uygulamasında %7 *A. arilaitensis* uygulamasında %9, *P. putida* uygulamasında %14 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %14 oranında azaldığı saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise β -glukosidaz enzim miktarının 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre göre *B. cereus* uygulamasında %20, *S. odorifera* uygulamasında %20, *L. amnigena* uygulamasında %18, *A. arilaitensis*

uygulamasında %23, *P. putida* uygulamasında %24 ve *L. amnigena* + *P. putida* uygulamasında ise %25 oranında azaldığı belirlenmiştir.

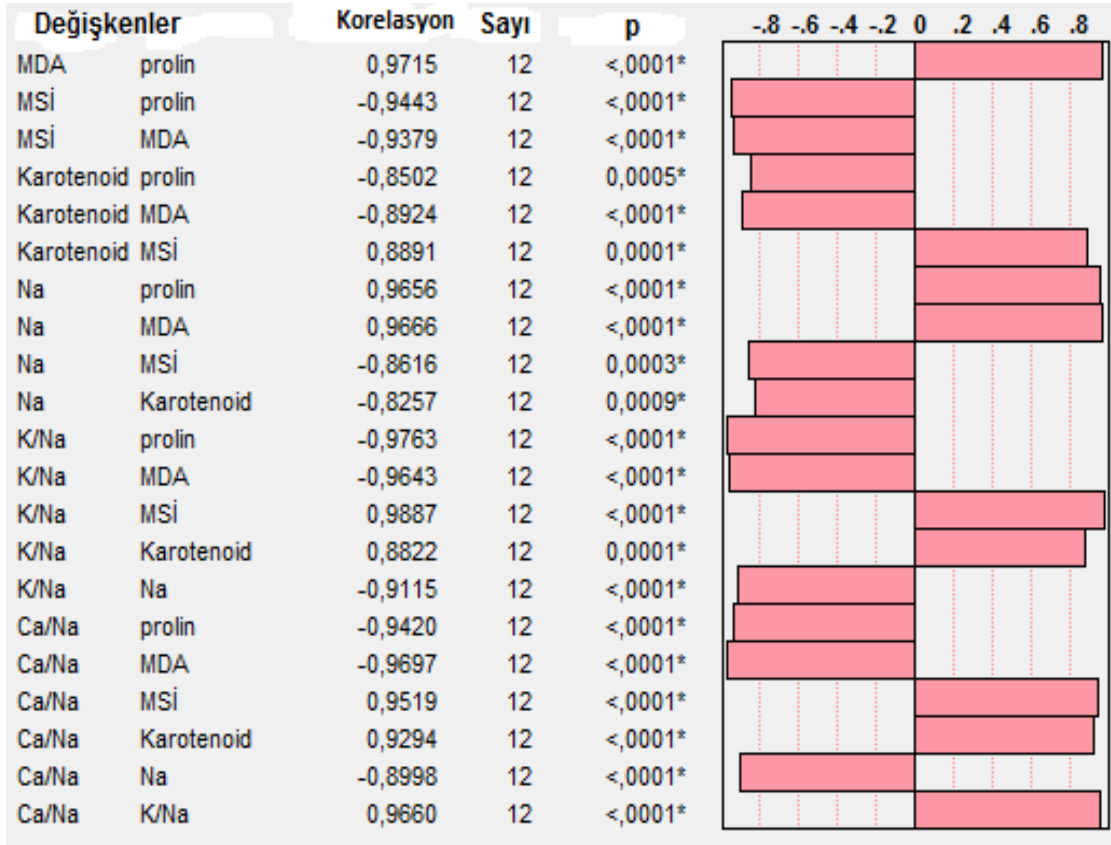


Şekil 3.33. β -glukosidaz enzim miktarı ile tuz konsantrasyonlarının ilişkisi

Saksı topraklarında yapılan β -glukosidaz enzim miktarının tuz konsantrasyonları ile ilişki önemli bulunmuştur (Şekil 3.33) Yapılan istatistiki analiz sonucunda alkalın fosfataz enzim miktarının tuz konsantrasyonları ile ilişkisinin R^2 değeri 0,88 olarak saptanmıştır

3.5.13. Buğday yaprak içeriklerinin korelasyon analizleri

Buğday yapraklarında analizleri yapılan element ve bileşiklerin birbiri ile olan ilişkileri korelasyon yapılarak belirlenmiş ve şekil 3.34’de sunulmuştur.



Şekil 3.34. Yaprak analizleri korelasyon tablosu

Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarında yapılan analizler sonucunda MDA ile prolin ($r=0,97$), karotenoid ile MSİ ($r=0,89$), yaprak Na içeriği ile prolin ($r=0,96$), yaprak Na içeriği ile MDA ($r=0,96$), K/Na oranı ile MSİ ($r=0,98$), K/Na oranı ile karotenoid ($r=0,88$), Ca/Na ile MSİ ($r=0,95$), Ca/Na ile karotenoid ($r=0,93$) ve Ca/Na ile K/Na ($r=0,96$) arasında yüksek pozitif ilişkiler görülmektedir. Bununla birlikte karotenoid ile prolin ($r=-0,85$), karotenoid ile MDA ($r=-0,89$), MSİ ile prolin ($r=-0,94$), MSİ ile MDA ($r=-0,93$), Na ile MSİ ($r=-0,86$), Na ile karotenoid ($r=-0,83$), K/Na ile prolin ($r=-0,98$), K/Na ile MDA ($r=-0,96$), Ca/Na ile prolin ($r=-0,94$) arasında yüksek negatif ilişkiler olduğu belirlenmiştir.

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler toprakta gelişirken büyüme ve gelişimleri olumsuz etkileyecek birçok biyotik ve abiyotik stres faktörleri ile karşılaşılırlar. Bitkiler açısından önemli sonuçları neden olabilen abiyotik stresler arasında kuraklık, aşırı ağır metal konsantrasyonu, besin yetersizliği, sel ve tuzluluk sayılabilmektedir (Glick ve ark. 2007). Abiyotik stres kaynakları arasında tuzluluğun kurak ve yarı kurak alanlarda en büyük problemlerden biri olduğu bildirilmektedir (Çiçek ve Çakırlar, 2002). Tuzluluk içinde spesifik iyon etkisi, osmotik kuraklık, hormonal dengesizlik ve besin alımında dengesizlikleri içeren kompleks etkileşimler ile bitki gelişimini azaltmaktadır (Arbona ve ark. 2005). Stres koşullarında besin ve hormonal dengesizliklere ek olarak bitki gelişiminin etilen miktarındaki artıştan özellikle etkilendiği belirlenmiştir. Stres koşullarında bitki bünyesinde artan etilen konsantrasyonun düşürülmesi bitki büyümesi ve gelişiminde olumlu etkilere neden olacağı varsayılmıştır. ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin kullanımının stres koşullarında gelişen bitkilerin gelişiminde rol oynayabileceği düşünülmektedir (Nadeem ve ark. 2001).

Çalışmamızda tuzlu topraklarda yetiştirilen buğday bitkisi köklerinden ACC deaminaz enzimini içeren bakterilerin izolasyonun yapılmasına ve laboratuvar koşullarında etkinliklerinin belirlenmesine çalışılmıştır. Daha sonra bu bakterilerin farklı tuz konsantrasyonlarında buğday gelişimi üzerine olan etkileri saptanmaya çalışılmıştır.

Çalışmamızda Eskişehir, Konya ve Afyon illerinde toplam 21 adet toprak örneği alınarak bakteri izolasyonu yapılmıştır. Dinç ve Şenol (1997) saturasyon macununun süzüğündeki EC'ye göre toprakları, 0-2 dS/m arasındaki topraklar tuzsuz, 2-4 dS/m arasındaki topraklar çok az tuzlu, 4-8 dS/m arasındaki topraklar az tuzlu, 8-16 dS/m arasındaki topraklar orta tuzlu olarak değerlendirmişlerdir. Dinç ve Şenol (1997)'nin sınıflandırmasına göre çalışmamızda bakteri izolasyonu yaptığımız 21 adet toprağın %33'ü tuzsuz, %33'ü çok az tuzlu, %19'u az tuzlu ve %14 ise orta tuzlu olarak bulunmuştur. Topraklarda yapılan kimyasal ve fiziksel analizler sonucunda toprakların 16 adetinin kil bünyeli, 2 adet toprağın siltli-tın bünyeli, 1 adet toprağın tın bünyeli olduğu ve 2 adet toprağın ise kumlu-killi-tın bünyeli olduğu belirlenmiştir. Toprak örneklerinin pH değerlerinin 7,32-8,48 arasında değişti ve toprakların tamamının kireçli olduğu saptanmıştır. Topraklar organik madde bakımından incelendiğinde 9 adet

toprağın organik maddece az, 8 adet toprağın orta, 3 adet toprağın iyi ve 1 adet toprağın yüksek organik madde içerdiği belirlenmiştir. Toprakların organik madde içeriğine göre sınıflandırılmasında Ülgen ve Yurtsever (1995) esas alınmıştır. Çalışmamızda kullandığımız toprakların bitki tarafından alınabilir fosfor kapsamları 12,16 mg/kg ile 160,52 mg/da arasında değişmektedir. Toprakların bitki tarafından alınabilir potasyum kapsamları ise 288 mg/kg ile 2045 mg/kg arasında değiştiği saptanmıştır.

Çalışmamızda 21 adet toprak örneğinden 122 adet ACC deaminaz içeren bakteri izolasyonu yapılmıştır. Topraklardan bakteri izolasyonu işleminde toprak örnekleri bitkiler ile birlikte alınmış ve izolasyon bitki kökleri arasında kalan topraklardan yapılmıştır. Kök rizosfer bölgesinden alınan toprak örnekleri 1/10 oranında steril serum fizyolojik su içinde çalkanmış ve daha sonra steril LB besiyerine ekim yapılmıştır. Bir gece 25 °C'de 150 rpm çalkalamalı etüvde geliştirilen bakterilerden daha sonra dölüsyon yapılarak 10^{-6} ve 10^{-7} dölüsyonlardan ACC'nin azot kaynağı olduğu modifiye DF besiyerine ekim yapılmıştır. Besiyerinde gelişen bakteriler saflaştırılarak stoklanmıştır. Glick ve Penrose (2003) ACC deaminaz içeren bakterilerin izolasyonunda rizosfer toprağından 1 g alınarak PAF besiyerinde 1 gün ön inkübasyon yapılmasının bakteri izolasyon şansını artıracağını belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu yöntemin *Enterobacteriaceae* ailesine ait ACC deaminaz içeren bakterinin izolasyonunda oldukça başarılı olduğunu ancak *Bacillus* türlerinin izolasyonun yapılamayacağını belirtmişlerdir. Belimov ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada toprak örneklerine ön zenginleştirme işlemi uygulamış ve *Bacillus* türleri de dahil ACC deaminaz enzimi içeren bakterilerin izolasyonunu yaptıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar ön zenginleştirme işleminde bezelye, patates ve lahana özütlerini kullandıklarını ve izolasyon işleminin yaklaşık olarak 5 gün sürdüğünü belirtmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız yöntem ile *Bacillus* türleri de dahil ACC deaminaz enzimi içeren bakterin izolasyonu diğer yönetmelere oranla daha kısa zamanda yapılmıştır.

Çalışmamız kapsamında izolasyonu yapılan bakterilerin tuzlu koşullarda buğdayın gelişimi üzerine olan etkileri petri ve kavanoz testleri ile test edilmiştir. Petri testleri sonucunda denemede kullanılan buğdayın ortalama fide uzunluğunun 4,56 cm ile 10,40 cm, kök uzunluğunun ise 11,40 cm ile 4,87 cm arasında değiştiği belirlenmiştir. Petri testleri sonucunda 21 adet bakteri ile kavanoz testleri kurulmuştur. Kavanoz testlerinde

kullanılan buğdayların ortalama fide uzunluğunun 30,20 cm ile 11,80 cm, ortalama kök uzunluğu ise 5,01 ile 18,80 cm arasında değiştiği saptanmıştır.

Kavanoz testleri sonucunda 5 adet bakteri ile 4 farklı tuz konsantrasyonunda saksı denemeleri kurulmuştur. Saksı denemelerinde kullanılan bakterin tür teşhisleri 16 s rDNA yöntemi ile belirlenerek bakterilerin türleri *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera*, *Lelliottia amnigena*, *Arthrobacter arilaitensis* ve *Pseudomonas putida* olarak belirlenmiştir. Çakmakçı ve ark. (2005) genel olarak bitki büyümesini teşvik edici bakteriler olarak *Acetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Herbaspirillum*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*, *Serratia* ve *Xanthomonas* cinslerine ait olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda tür teşhisleri yapılan 5 adet bakterinin bitki büyümesini teşvik edici özelliklerini belirlemek için ürettikleri ACC deaminaz enzim miktarının yanında indol asetik asit üretimi (IAA), fosfor çözebilme, azot içermeyen ortamda gelişip gelişmedikleri, siderofor üretimi, amonyak üretimi(NH₃) ve hidrojen siyanid (HCN) üretim testleri yapılmıştır.

Fosfor bitki gelişmesini sınırlayan temel elementlerdendir. Toprakta genellikle çözünemez formda olduğu için yüksek verim için genellikle alınabilir P yetersizdir. Genel olarak hakim fosfat formları asit topraklarda Fe ve Al bileşikleri kalkerli topraklarda ise Ca fosfatlar şeklindedir. İnorganik fosfatın çözünmesi ve organik fosfatın mineralizasyonu fosforu alınabilir forma dönüştürmektedir (Çakmakçı, 2005, 2014) Mikroorganizmaların fosfor çözebilme yetenekleri incelendiğinde temel mekanizmanın organik asit gibi çeşitli metabolik ürünlerin rol oynadığı belirlenmiştir. Mikroorganizmaların toprakta yarayışsız formda bulunan fosforu bitkilerin alabileceği forma dönüştürmesi sırasında salgıladıkları organik ve inorganik asitlerde bulunan hidroksil ve karboksil gruplarının toprakta bulunan demir, kalsiyum ve aliminyum iyonlarını bağlamaları ve pH'nın düşürülmesinin ana mekanizma olduğu saptanmıştır (Stevenson, 2005). Çalışmamız kapsamında izole edilen bakterilerden *S. odorifera*, *L. amnigena*, ve *P. putida*'nın fosfor çözebildikleri ve en yüksek fosfor çözünürlüğü olan bakterinin 111,2 ppm ile *S. odorifera* olduğu belirlenmiştir. Fosfor çözücü mikroorganizmaların etkinliğinin belirlendiği çalışmalarda genellikle fosfor kaynağı olarak trikalsiyum fosfat kullanılmakta olup Cheng ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada

S. marcescen'in 421 ppm, Luduena ve ark. (2016) *Serratia* sp. S119'un 200 ppm, Gao ve ark. (2016) *Ochrobactrum haematophilum*'un 360 ppm fosfor çözebildiklerini göstermiştir. Ancak Bashan ve ark.(2013) mikroorganizmaların fosfor çözünürlüğünün belirlenmesinde trikalsiyum fosfat yerine kaya fosfat kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir.

İndol asetik asit bitki büyümesinde ve gelişiminde rol oynayan ve genel olarak oksin adı verilen bitki hormonlarından birisidir. IAA üretiminin bitkiler ile ilişkili bakteriler arasında oldukça yaygın olduğu belirlenmiştir (Patten ve Glick, 1996). Köklerin hızlı gelişimi, yan kök oluşumu ve kök yüzeyinin artması; özellikle genç bitkilerin toprağa tutunması, su ve bitki besin maddelerinden daha fazla yararlanmasını sağlayacağından önemli olduğu düşünülmektedir. Bitki kök rizosferinde bulunan çoğu bakterinin IAA ürettikleri ve üretilen bu hormonun bitki bünyesinde bitkiler tarafından üretilen hormonlarla benzer etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Patten ve Glick, 2002). Çalışmamızda saksı denemelerinde kullanılan bakterilerin tamamının IAA üretebildiği saptanmıştır. Bakterilerin IAA üretim miktarının 14 ppm ile 35 ppm arasında olduğu, en yüksek IAA üreticisinin *B. cereus* olduğu saptanmıştır. Amad ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada IAA üretiminin bakterinin çoğaldığı besiyerinin bileşiminden oldukça etkilendiğini ve *Pseudomonas* sp. Ps4 bakterisinin 43 ppm, *Azotobacter* sp. S6 bakterisinin ise 26 ppm IAA ürettiğini bildirmişlerdir. Bharucha ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada *P. putida* UB1'in 591 ppm IAA üretebildiğini belirtmişlerdir.

Saksı denemesinde kullanılan bakterilerin azot içermeyen ortamda gelişip gelişmedikleri belirlenmiştir. Yapılan testler sonucunda *B. cereus*, *S. odorifera*, *A. arilaitensis* ve *P. putida*'nın azot içermeyen ortamda gelişebildikleri saptanmıştır. *B. cereus* ve *P. putida*'nın azotsuz besiyerinde gelişiminin diğer bakterilerin gelişimden daha iyi olduğu gözlenmiştir. Çakmakçı ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada azot fiske edebilen *P. putida*'nın şekerpancarında verimi önemli ölçüde artırdığını ve biyogübre olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Bakterilerin HCN üretimleri incelendiğinde *A. arilaitensis* bakterisinin HCN üretebildiği diğer bakterilerin ise HCN üretiminin olmadığı belirlenmiştir. Gupta ve ark. (2002) HCN'nin uçucu bir bileşik olup fungal patojenlerin baskılanmasında rol oynayan ajanlardan olduğunu belirtilmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca HCN üreten bakterilerin bitki patojenlerine karşı kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Kremer ve ark.(2001) ise

yüksek oranda HCN üretimin bitki kök gelişimini olumsuz etkileyerek bitkilere zarar verebileceği ortaya koymuşlardır.

Bakterilerin amonyum (NH_3) üretimleri araştırılmış ve *B. cereus*, *L. amnigena*, *A. arilaitensis* ve *P. putida*'nın NH_3 üretebildiği saptanmıştır. Söz konusu bakteriler içinde *A. arilaitensis* ve *P. putida*'nın NH_3 üretiminin diğer bakterilerden fazla olduğu saptanmıştır. Amonyak üretimi, bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin ortak ve önemli bir özelliği olduğu saptanmıştır. Amonyak üretimi, toprakta bulunan ölü organizmaların protein kalıntılarının deaminasyonu yoluyla topraktaki azotun bitki tarafından kullanılmasını sağlayarak bitki gelişimine yardımcı olduğu bildirilmiştir (Joseph ve ark. 2007).

Bakterilerin ACC deaminaz üretiminin 51,86-148,75 nmol α -ketobutirat/mg protein/saat aralığında değiştiği belirlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız bakteriler arasında en yüksek ACC deaminaz enzimi içeren bakterinin 148,75 nmol α -ketobutirat/mg protein/saat ile *A. arilaitensis* olduğu saptanmıştır. Glick ve ark. (2002) 20 nmol α -ketobutirat/mg protein/saat ve daha fazla ACC deaminaz enziminin etilen miktarını azaltmada yeterli olduğunu ve 20 nmol α -ketobutirat/mg protein/saat enzim üreten bakterilerin bitki büyümesini teşvik edici bakteriler sınıfında değerlendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Demir dünyamızda en çok bulunan dördüncü element olmasına rağmen demirin +3 formunun canlılar için alınabilir formda olduğu bildirilmiştir. Canlıların demir gereksinimleri birbirinden farklılık göstermektedir, örneğin bitkilerin optimal büyümesi için 10^{-9} M, mikroorganizmaların optimal büyümesi için gerekli olan demir miktarı 10^{-7} ila 10^{-5} M aralığında olduğu saptanmıştır (Raymond ve ark. 2003). Sideroforlar, demir eksikliğinde mikroorganizmalar tarafından salgılanan, düşük moleküler ağırlıklı ve Fe^{+3} 'e karşı yüksek affinite gösteren protein tabiatında bileşikler olduğu saptanmıştır (Neilland, 1995). Çalışmamızda saksı denemelerinde kullanılan bakterilerden *S. odorifera*'nın siderofor üretebildiği diğer bakterilerin ise siderofor üretmediği saptanmıştır.

Tuz bitki veriminde düşüşlere neden olan abiyotik stres kaynaklarından biridir. Projemizde 5 bakteri türü (*B. cereus*, *S. odorifera*, *L. amnigena*, *A. arilaitensis* ve *P. putida*) ile *L. amnigena* & *P. putida* türlerinin birlikte kullanımından oluşan 6 bakteri

uygulaması ve 4 farklı tuz konsantrasyonunda buğday verimi incelenmiştir. Tuz seviyeleri; kontrol (0,95 dS/m), 3,98 dS/m, 7,80 dS/m ve 11,05 dS/m'dir. Proje kapsamında tüm uygulamalar 4 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her saksı 4 adet buğday yetiştirilmiştir. Yapılan analiz sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğday veriminde önemli düşüşler görülmüştür. Tuz konsantrasyonları ile buğday verimi arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,95$). Kontrolde verim 3,52 g iken artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak verim düşerek sırasıyla 2,58 g, 2,26 g, ve 1,53 g olarak saptanmıştır. Bakteri uygulamalarının buğday verimi üzerinde istatistiki olarak önemli etkileri olduğu saptanmıştır. Bakteri uygulamalarında bakteri aşılama yapılmamış kontrol ile *L. amnigena* ile *P. putida*'nın birlikte uygulanmasında sırasıyla ortalama 2,47 g ve 2,46 g ile en düşük verim değerleri elde edilmiştir. Buğday veriminde en yüksek verimler 2,86 g ile *A. arilaitensis* uygulamasından alınırken bunu 2,84 g ile *L. amnigena*, 2,74 g ile *P. putida* ve 2,66 g ile *S. odorifera* uygulamaları izlemiş ve istatistiksel olarak aynı LSD grubuna girerek birbirinden farklı etki göstermedikleri saptanmıştır. Farklı tuz seviyeleri ayrı ayrı incelendiğinde 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 3,52 g verim alınırken bakteri uygulamaları arasında en yüksek verim 3,64 ile *S. odorifera* uygulamasından alınmıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde 2,57 g verim elde edilirken uygulamalar arasında en yüksek verim 3,42 g ile *L. amnigena* uygulamasından alınmış bu uygulamayı sırası ile 3,37 g ile *P. putida* ve 3,23 g ile *S. odorifera* uygulamaları izlemiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 2,26 g verim elde edilirken bakteri uygulamaları arasında en yüksek verim 3,05 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 11,05 dS/m uygulamalar arasında en yüksek verim 1,69 g ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilirken bu uygulamayı sırasıyla 1,68 g ile *L. amnigena* ve 1,44 ile *P. putida* uygulamaları takip etmiştir. Tuz konsantrasyonlarının buğday verimi üzerindeki etkileri incelendiğinde verimin 0,95 dS/m seviyesine göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %26, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %35 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise %56 oranında verimde düşüş olduğu belirlenmiştir. Bu düşüş bakteri uygulamalarında birbirinden farklılık göstermektedir. Kontrole göre tuz konsantrasyonlarında meydana gelen düşüşün en az olduğu uygulamanın *A. arilaitensis* uygulaması olduğu belirlenmiştir. *A. arilaitensis* uygulamasında verimin 0,95 dS/m konsantrasyonuna göre 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %11, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %14 ve 11,05 dS/m tuz

konsantrasyonunda ise %52 oranında düşüş gösterdiği saptanmıştır. Nadeem ve ark. (2007) yaptıkları araştırmada artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak mısır veriminde azalmalar olduğu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ACC deaminaz içeren bitki büyümesini teşvik eden bakterileri ile aşılamanın farklı tuz koşullarında yetiştirilen mısırın veriminde artışlara neden olduğunu göstermişlerdir. Benzer şekilde Zahir ve ark. (2009) farklı tuz konsantrasyonlarda yetiştirilen buğdaylarda ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılamanın buğdayların aşılamanmayanlara göre verim artışı sağladığını belirtmişlerdir.

Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğday biyomas veriminde azalma olduğu belirlenmiştir. Yapılan istatistiki analizler sonucunda tuz, bakteri uygulamaları ile tuzx bakteri interaksiyonun önemli olduğu saptanmıştır. Tuz konsantrasyonları ile buğday biyoması arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,93$). 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde 7,77 g biyomas elde edilirken bakteri uygulamaları arasında en yüksek biyomas verimi 9,62 g ile *B. cereus* uygulamasından alınmış ve bu uygulamayı 9,43 g ile *S. odorifera* uygulaması takip etmiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde 7,07 g biyomas alınırken bakteri uygulamaları arasında en yüksek verim 7,67 g ile *L. amnigena* uygulamasından elde edilmiştir. Bu uygulamayı 7,43 g ile *S. odorifera*, 7,42 g ile *A. arilaitensis* ve 7,40 g ile *B. cereus* uygulamaları takip etmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrol konusu 6 g biyomas verimine sahipken uygulamalar arasında en yüksek verim 7,06 g ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda tüm uygulamaların istatistiki olarak aynı LSD grubuna (n) girerek birbirinden farklı olmadıkları saptanmıştır. Yapılan analizler sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonundaki veriler dikkate alınarak bakteri uygulaması yapılmayan kontrolde biyomas miktarının 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %10, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %23 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda % 77 oranında azaldığı saptanmıştır. 3,98 dS/m ve 7,80 dS/m tuz konsantrasyonlarında 0,95 dS/m tuz konsantrasyonundaki biyomas verimlerine göre en az azalma gösteren uygulamanın sırasıyla %6,25 ve %14,60 ile *P. putida* uygulaması olduğu belirlenmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda göre biyomas kaybının %70 ile %80 arasında değiştiği belirlenmiş ve bu tuz konsantrasyonunda uygulamalar arasındaki farkın önemli olmadığı saptanmıştır. Biyomas verimleri dikkate alındığında 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda *B. cerus* ve *S. odorifera*, 3,98 dS/m tuz

konsantrasyonunda *L. amnigena*, *S. odorifera*, *A. arilaitensis*, *B. cereus*, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis* uygulamaları ön plana çıkarken 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda uygulamalar arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Nadeem ve ark. (2007) mısır bitkisinde yaptıkları çalışmada Singh ve ark. (2016, 2017) buğday bitkisinde yaptıkları çalışmalarda farklı tuz konsantrasyonlarında ACC deaminaz ile aşıl原因an bitkilerin biyomas verimlerinin bakteri ile aşıl原因mayan kontrollerine göre daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Prolin çeşitli nedenlerle streslere maruz kalan bakteri, protozoa deniz omurgasızları ve bitkilerde birikim gösteren ilk aminoasitlerdendir. Bitkilerde prolin birikiminin seviyesi türden türe değişiklik göstermekle birlikte kontrol duruma göre 100 kat daha büyük olabilmektedir. Prolin özellikle bitkilerde tuz ve kuraklık stresi koşullarında osmoprotektan olarak görev almaktadır (Verbruggen ve Hermanas, 2008). Çalışmamızda yapılan prolin analizleri sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğday yapraklarında prolin miktarının arttığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile yaprak prolin miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,99$). Yapılan istatistiki analiz sonuçlarına göre yaprak prolin miktarı üzerinde tuz, bakteri uygulamaları ve tuzxbakteri interaksiyonun önemli olduğu saptanmıştır. Ortalamalar üzerinden incelendiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonundaki buğday yaprağında prolin miktarı 0,84 $\mu\text{mol/g}$ olarak belirlenirken 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,96 $\mu\text{mol/g}$, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 1,22 $\mu\text{mol/g}$ ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonundaki 2,03 $\mu\text{mol/g}$ olarak saptanmıştır. Bakteri uygulamaları genel olarak bakteri uygulanmayan kontrollere göre daha az miktarda prolin birikimine neden olmuşlardır. Bakteri uygulamaları içinde en az prolin miktarı ortalama 0,99 $\mu\text{mol/g}$ prolin ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilirken bu uygulamayı 1,09 $\mu\text{mol/g}$ prolin ile *P. putida* uygulaması izlemiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki prolin miktarları incelendiğinde, 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde 0,82 $\mu\text{mol/g}$ olarak saptanırken bakteri uygulamaları arasında en düşük prolin miktarı en düşük 0,83 $\mu\text{mol/g}$ prolin miktarı *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda genel olarak uygulamalar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde prolin miktarı 0,98 $\mu\text{mol/g}$ olarak belirlenirken bakteri uygulamaları arasında en düşük yaprak prolin içeriğinin 0,81 $\mu\text{mol/g}$ ile *A. arilaitensis*

ve 0,85 $\mu\text{mol/g}$ ile *P. putida* uygulamalarından elde edildiği saptanmıştır. 7,80 dS/m ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonlarında en yüksek prolin miktarı, 1,68 $\mu\text{mol/g}$ ve 2,87 $\mu\text{mol/g}$ ile kontrollerden alınırken en düşük değerler, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 1,02 $\mu\text{mol/g}$ ile *A. arilaitensis*, 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda ise 1,33 $\mu\text{mol/g}$ ile *P. putida* uygulamalarından elde edilmiştir. Bakteri uygulaması yapılmayan kontroldeki yaprak prolin miktarının 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %20, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %112 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %263 oranında arttığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamaları arasında *A. arilaitensis* ve *P. putida* uygulamalarında prolin miktarında meydana gelen yüzdesel artış, kontrole göre daha az olmuştur. *A. arilaitensis* uygulamasındaki yaprak prolin miktarı 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %1 artarken *P. putida* uygulamalarında %2 oranında azalmıştır. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis* uygulamasındaki prolin artış oranı % 14 iken, *P. putida* uygulamalarındaki artış oranı %16 olarak belirlenmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda en düşük % artış oranı %46 ile *P. putida* uygulamasından elde edilmiştir. Daha önce yapılan birçok çalışmada stres koşulları altında prolin miktarının arttığı belirtilmiştir (Chandra ve ark. 2004, Jimenez-Bremont ve ark. 2006, Tripathi ve ark. 2007). Bakteri uygulamaları arasında 3,98 dS/m ve 7,80 dS/m tuz konsantrasyonlarında *A. arilaitensis* ve *P. putida*, 11,05 dS/m konsantrasyonunda ise *P. putida* ve *S.odorifera* uygulamaları ön plana çıkmıştır. Çalışmamız sonucunda ACC deaminaz içeren bakterilerin kullanımının buğday yapraklarında prolin birikimini azalttığı belirlenmiştir. Bakteriler ile aşılaman bitkilerde kontrol bitkilerine göre daha az prolin birikiminin olması, bitkilerin tuz stresinden daha az etkilendiklerinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Nadeem ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada artan tuz dozlarına bağlı olarak buğday yapraklarında prolin miktarının arttığını saptamışlardır. Araştırmacılar tuzsuz koşullarında ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılamanın yaprak prolin miktarı üzerinde etkili olmadığını ancak, artan tuz dozlarında bakterilerin kontrollere göre daha az miktarda prolin birikime neden olduklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Singh ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada buğday yapraklarında prolin miktarının artan tuz dozlarına bağlı olarak artış gösterdiğini, ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılamanın yaprak prolin içeriğini kontrollere göre düşürdüğünü göstermişlerdir.

Yaprak malondialdehit içeriği (MDA) tuz stresine maruz kalan bitkilerde lipid peroksidasyonu sonucu oluşur ve membran bütünlüğünün bozulmasının en belirgin belirteçlerinden biri olarak kabul edilmektedir (Arshaf ve ark. 2010). Çalışmamızda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yaprak MDA içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile yaprak MDA içeriği arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,96$). MDA konsantrasyonlarının ortalamalar dikkate alındığında 0,95 dS/m tuz konsantrasyonundaki buğday yaprağında MDA miktarı 0,56 nmol/ml olarak belirlenmişken bu değer 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,64 nmol/ml, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,69 nmol/ml ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonundaki 0,80 nmol/ml olarak saptanmıştır. Bakteri uygulamalarında genel olarak bakteri uygulaması yapılmayan kontrole göre daha az yaprak MDA içeriği saptanmıştır. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki uygulamalar incelendiğinde, 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MDA miktarı 0,57 nmol/g olarak belirlenirken bakteri uygulamaları ile kontrol arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MDA miktarı 0,64 nmol/ml olarak belirlenirken bakteri uygulamaları arasında en düşük MDA miktarı 0,62 nmol/ml ile *P. putida* uygulamasından elde edilmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda tüm bakteri uygulamaları kontrol konusundan daha düşük MDA değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MDA miktarı 0,76 nmol/ml olarak saptanırken en düşük MDA miktarı 0,67 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MDA miktarı 1,01 nmol/ml olarak saptanırken uygulamalar arasında en düşük MDA miktarı 0,72 nmol/ml ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. Kontroldeki buğday yaprak MDA miktarı 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %12, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %33 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %77 oranında arttığı belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarında MDA miktarında meydana gelen artışların, kontrole oranla daha düşük olduğu saptanmıştır. bakteri uygulamaları arasında en düşük yüzdesel değişim *P. putida* uygulamasından elde edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yapraklarda oluşan MDA miktarının arttığı, ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılamanın yapraklarda oluşan MDA miktarını azalttığı saptanmıştır. Singh ve ark. (2017) buğday bitkisinde yaptıklarını çalışmada ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılamanın bitkilerin kontrol grubunda daha az MDA içerdiğini ve bunun bakterileri ile aşılamanın bitkilerde membran

zararlanmasının azaldığı şeklinde yorumlanması gerektiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Koç (2015) ACC deaminaz içeren bakterileri ile arbusküler mikoriza uygulamalarının farklı tuz koşullarında geliştirilen çilek bitkisinde lipit peroksidasyonun azalmasını sağladığını göstermiştir.

Membran stabilite indeksi (MSİ) membran bütünlüğünde meydana gelen zararlanma sonucu oluşan iyon sızıntısının ölçütü olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda yapılan analizler sonucu artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak MSİ oranının azaldığı saptanmıştır. Tuz konsantrasyonları ile MSİ arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,96$). Farklı tuz konsantrasyonlarında MSİ değerleri ortalamalar üzerinden değerlendirildiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda %82, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %80, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %60 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %52 olarak saptanmıştır. Farklı tuz konsantrasyonlarındaki uygulamalar incelendiğinde, 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontroldeki MSİ değeri %82,31 olarak belirlenirken bakteri uygulamaları ile kontrol arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontroldeki MSİ değeri %77,94 olarak belirlenirken bakteri uygulamaları arasında en yüksek MSİ değeri %81,25 *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda bakteri uygulamalarının genel olarak kontrolden daha yüksek MSİ değerlerine sahip oldukları belirlenmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MSİ değeri %59,76 olarak saptanırken bakteri uygulamaları arasında en yüksek MSİ değeri %64,62 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde MSİ değeri %50,09 olarak saptanırken uygulamalar arasında en yüksek MSİ değeri 60,94 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak kontroldeki MSİ oranı 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %5, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %27 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %39 oranında azaldığı saptanmıştır. Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak meydana gelen bu azalmalar *A. arilaitensis*, *S. odorifera* ve *P. putida* uygulamalarında ise kontrole göre daha düşük olarak bulunmuştur. Farklı tuz konsantrasyonlarda uygulamalar incelendiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda bakteri uygulamaları arasında fark bulunamamıştır, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis*, *S. odorifera*, *P. putida* ve *L. amnigena*

uygulamaları, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis*, *P. putida* ve *L. amnigena* ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis* uygulaması istatistiki olarak ön plana çıktığı saptanmıştır. Tuz stresinin buğday gelişimi üzerine etkileri üzerine yapılan birçok araştırmada MSİ değerlerinin düştüğü gösterilmiştir (Sairam ve ark. 2002, Rao ve ark. 2013, Tamimi, 2016). Bakteri uygulamalarının kontrol Uygulamalarına göre daha yüksek değerler vermesi bitkilerin tuz stresinden daha az etkilendiğinin göstergesi olarak kabul edilebilir.

Klorofil ve karotenoidler bitkilerin fotosentetik pigmentleri olup klorofil molekülleri fotosentezde ışık absorpsiyonundan, karotenoidler ise ışık absorpsiyonu sırasında meydana gelen fazla enerjinin bitkiye zarar vermesini engellemekle görevli oldukları bildirilmiştir (Green ve Dunford, 1996). Çalışmamızda yapılan analizler sonucunda yaprak karotenoid içeriğinin artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile yaprak karotenoid içeriği arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,81$). Yapılan analiz sonucunda yaprak karotenoid miktarı üzerinde tuz, bakteri önemli ve tuzx bakteri interaksyonunun ise önemsiz olduğu belirlenmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarının yaprak karotenoid miktarı ortalamalar üzerinden değerlendirildiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,86 mg/g, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,76 mg/g, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,68 mg/g ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonundaki 0,56 mg/g olarak saptanmıştır. Tuz stresi koşullarında yetiştirilen buğday bitkisinde bakteri uygulamalarının kontrol konusunda göre daha yüksek karotenoid değerleri verdiği belirlenmiştir. Yaprak karotenoid miktarı kontrolde 0,66 mg/g olarak saptanırken *S. odorifera*, *L. amnigena*, *A. arilaitensis* *P. putida* ve uygulamalarında sırasıyla ortalama 0,74 mg/g, 0,73 mg/g, 0,73 mg/g ve 0,74 mg/g olarak saptanmıştır. Tuz konsantrasyonlarındaki artışa bağlı olarak kontroldeki yaprak karotenoid miktarının 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %19, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %25 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %47 oranında azaldığı saptanmıştır. Bakteri uygulamaları arasında tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak karotenoid miktarındaki azalmanın en düşük olduğu uygulamanın *A. arilaitensis* uygulaması olduğu saptanmıştır. *A. arilaitensis* uygulamasında yaprak karotenoid miktarının 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %14, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %20 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda

%46 oranında azaldığı saptanmıştır. Tuzlu koşullarda yetiştirilen buğdayın gelişiminin araştırıldığı birçok çalışmada tuz stresi altında buğdayda karotenoid miktarının azaldığı bildirilmiştir (Sairam ve ark. 2002, Yakıt ve Tuna 2006, Kaydan ve ark. 2007, Wang ve ark. 2008). Çalışmamızda ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşıl原因an bitkilerin tuz stresi altında yetiştirilen buğday bitkisinde karotenoid miktarının kontrole göre daha fazla olması buğday gelişiminin daha sağlıklı olduğunun göstergesidir.

Çalışmamız kapsamında farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğdaylardan yaprak örnekleri alınarak sodyum (Na) analizleri yapılmış ve artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak bitki yapraklarındaki Na miktarının arttığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile yaprak Na miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,95$). Farklı tuz konsantrasyonlarında ortalamalar üzerinden yapılan değerlendirmelerde yaprak Na miktarı 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna %0,12, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda %0,13, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %0,30 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %1,05 olarak saptanmıştır. Yaprak Na içeriği üzerinde bakteri uygulamaların etkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Farklı tuz konsantrasyonlarında yetiştirilen buğday yapraklarındaki Na miktarı incelendiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde Na miktarı %0,12 olarak belirlenmiştir. 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda bakteri uygulamaları ile kontrol arasında istatistiki olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde Na miktarı %0,15 olarak saptanırken bakteri uygulamaları arasında en düşük Na miktarı %0,11 ile *P. putida* uygulamasından elde edilmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde Na miktarı %0,32 olarak belirlenirken uygulamalar arasında en düşük Na içeriği %0,25 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiştir. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde Na miktarı % 1,14 olarak saptanırken en düşük Na içeriği %1,06 ile *A. arilaitensis* uygulamasında saptanmıştır. Artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak kontroldeki yaprak Na içeriği 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %25, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %166 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %850 oranında arttığı saptanmıştır. Bakteri uygulamalarında sodyumun yüzdesel artış oranı birbirinden farklılık göstermekle beraber kontrolden elde edilen değerlerin altında kalmıştır. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda uygulamalar arasında fark olmadığı, 3,98 dS/m tuz

konsantrasyonunda *P. putida* *S. odorifera*, *A.arilaitensis* ve *L. amnigena* uygulamalarının LSD testine göre istatistiksel olarak aynı gruba girdiği ve kontrolden daha az oranda Na içerdiği, 7,80 dS/m ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonlarında *A.arilaitensis* uygulamasının daha az yaprak Na içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Tuz stresinin buğday gelişimi üzerine etkilerinin araştırıldığı birçok çalışmada artan tuz stresine bağlı olarak bitki dokularında Na miktarının arttığı (Sairam ve ark. 2002, Yakıt ve Tuna, 2006, Kaydan ve ark. 2007, Wang ve ark. 2008) ve bitkilere uygulanan çeşitli kimyasal maddelerin yaprak Na içeriğini azaltarak bitkide tuz stresinin etkilerinin azaltılabileceğinin saptandığını belirtmişlerdir (Kaydan ve ark. 2007). Çalışmamız sonucunda ACC deminaz ile aşılaman bitkilerde kontrole göre daha az oranda Na tespit edilmesi, bakteri ile aşılamanın bitkilerde tuz stresinin azaltıldığını göstergesi olarak kabul edilebilir. Singh ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğday kök ve gövdelerinde Na miktarının arttığını, ACC deaminaz içeren ZNP-3 bakterisi ile aşınan buğdayların kök ve gövdelerinde Na miktarının kontrollerinden daha az olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar yüksek tuz konsantrasyonlarda bitki kök ve gövdelerindeki Na azalmasının bitki gelişimini artırdığını ileri sürmüşlerdir.

Çalışmamız kapsamında buğday yapraklarında potasyum (K) miktarı belirlenmiş ve K/Na oranı hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yaprak K/Na oranının düştüğü saptanmıştır. Tuz konsantrasyonları ile K/Na oranı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,99$). Farklı tuz konsantrasyonlarında ortalamalar üzerinden yapılan değerlendirmelerde yaprak K/Na oranı 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna K/Na oranı 19, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 16,67, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 9,7 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 1,47 olarak belirlenmiştir. Yaprak K/Na oranı üzerinde bakteri uygulamalarının istatistiksel olarak etkili olduğu saptanmıştır. Bakteri uygulamalarının ortalamaları dikkate alındığında en yüksek yaprak K/Na oranı 13,66 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilirken en düşük yaprak K/Na içeri 9,94 ile bakteri uygulaması yapılmayan kontrolde elde edilmiştir. 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde K/Na oranı 16,78 olarak saptanırken, bakteri uygulamaları arasında *P. putida* uygulaması 24,05 ile en yüksek K/Na oranına sahip uygulama olmuştur. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda K/Na oranı kontrolde 14,03

olarak belirlenirken, bakteri uygulamaları arasında *A. arilaitensis* uygulamasının 19,66 K/Na oranı ile diğer bakteri uygulamalarından daha yüksek bir K/Na oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Bu uygulamayı 17,82 K/Na oranı ile *P. putida* uygulaması takip etmiştir. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde K/Na oranı 7,49 olarak saptanmış, bakteri uygulamalarında ise *A. arilaitensis* ve *S. odorifera* uygulamalarının istatistiksel olarak aynı gruba girdiği ve sırasıyla 11,68 ile 9,93 oranları ile en yüksek K/Na oranları sahip uygulamalar oldukları saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda en yüksek K/Na oranı *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmesine rağmen uygulamalar arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark bulunmamıştır. Kontrolde yaprak K/Na içeriği 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %16, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %55 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %91 oranında azaldığı saptanmıştır. Bakteri uygulamalarının yüzdesel değişimleri birbirinden farklılık göstermekle birlikte kontrolde daha küçük düşüşler gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda *P. putida* uygulamasının, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda *A.arilaitensis* ve uygulamasının, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda *A. arilaitensis* uygulamasının ön plana çıktığı, 11,05 dS/m tuz konsantrasyonlarında ise uygulamalar arasında herhangi bir istatistiksel farkın bulunmadığı saptanmıştır. Bitkilerde homeostasisi özellikle de Na ve K iyonlarının dengesi bitki gelişimini önemli ölçüde etkilemektedir. Bitkilerde yüksek Na içeriği ve düşük K/Na oranının bitki gelişimini engellediği belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2010). Bu yüzden bitkilerin hücrelerine K iyonları olarak yüksek K/Na oranına ulaşmaya çalıştıkları saptanmıştır. Yüksek K/Na oranı tuza tolerans olarak kabul edilmektedir (Hamed ve ark. 2004). Kaydan ve ark.(2007) buğdayda, Bayram (2016) domateste yaptıkları çalışmalarda tuz stresi koşullarında yetiştirilen bitkilerde K/Na oranının düştüğünü, bu stres koşullarında daha yüksek K/Na oranına sahip bitkilerin tuza toleranslı kabul edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşılaman bitkilerde kontrol Uygulamalarına göre daha yüksek K/Na oranına sahip olduğundan, ACC deaminaz içeren bakterileri ile aşılamanın bitkide tuz stresini hafiflettiği sonucuna varılmıştır. Zahir ve ark. (2009) yaptıkları çalışmada artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak buğdayda K/Na oranının düştüğünü, ACC deaminaz içeren bakterilerin kullanılması durumunda K/Na oranının kontrollere göre yükseldiğini belirlemişlerdir.

Çalışmamız kapsamında buğday yapraklarında kalsiyum (Ca) miktarı belirlenmiş ve Ca/Na oranı hesaplanmıştır. Yapılan analizler sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yaprak Ca/Na oranında azalma meydana geldiği saptanmıştır. Tuz konsantrasyonları ile yaprak Ca/Na oranı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,96$). Yaprak Ca/Na oranı ortalamalar üzerinden incelendiğinde 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda 6,13, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 5,92, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 4,02 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,56 olarak belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının yaprak Ca/Na oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bakteri uygulamaları arasında en yüksek Ca/Na oranı 4,40 ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilirken en düşük oran 3,64 ile kontrolden elde edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlardaki bakteri uygulamalarına bakıldığında 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde Ca/Na oranı 6,40 olarak saptanırken bakteri uygulamaları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. 3,98 dS/m ve 7,80 dS/m tuz konsantrasyonlarında kontrollerde Ca/Na oranı sırasıyla 3,17 ve 0,50 olarak belirlenirken, *A. arilaitensis* uygulamasının sırasıyla 5,94 ve 5,17 Ca/Na oranlarıyla diğer Uygulamalardan daha yüksek Ca/Na oranına sahip olduğu saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda bakteri uygulamaları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark bulunamamıştır. Kontroldeki yaprak Ca/Na içeriği 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 0,95 dS/m tuz konsantrasyonuna göre %30, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda %50 ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda %92 oranında azaldığı saptanmıştır. Bakteri uygulamalarında farklılıklar olmakla birlikte *A. arilaitensis* uygulamasındaki azalma oranları sırasıyla %14, %18 ve %91 olarak belirlenmiş diğer uygulamalardan farklılaşmıştır. Gautier ve ark. (2010) ve Bayram (2016) domateste yaptıkları çalışmalarda tuz stresi koşullarında bitkilerde Ca/Na oranının azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda ACC deaminaz içeren bakteriler ile aşıl原因an bitkilerde kontrol Uygulamalarına göre daha yüksek Ca/Na oranına sahip olduğundan, ACC deaminaz içeren bakterileri ile aşılamanın bitkide tuz stresini hafifletebileceği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamız kapsamında tuzlandırılan saksılarda alkalın fosfataz enzim aktivitesi belirlenmiş ve artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak toprakta alkalın fosfataz enzim miktarının azaldığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile alkalın fosfataz enzim miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,88$). Artan tuz

konsantrasyonlarına bağılı olarak alkalın fosfataz aktivitesi, 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda 196,17 µg p-NP / g KT / saat, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 182,47 p-NP / g KM / saat, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 158,2 p-NP / g KM / saat ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 139,4 p-NP / g KT / saat olarak belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının toprak alkalın fosfataz aktivitesi üzerine etkileri istatistiksel açıdan önemli olup en yüksek enzim miktarı 184,20 p-NP / g KT / saat ile *P. putida* uygulamasından elde edilmiştir. Farklı tuz konsantrasyonlarının etkilerine bakıldığından 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde enzim aktivitesi 189,13 p-NP / g KT / saat olarak belirlenirken en yüksek enzim aktivitesi 214,67 p-NP / g KT / saat ile *A. arilaitensis* uygulamasından elde edilmiş bu uygulamayı 203,15 p-NP / g KT / saat ile *L. amnigena* ve 200,33 p-NP / g KT / saat ile *P. putida* uygulamaları izlemiştir. 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda kontroldeki enzim aktivitesi 163,15 p-NP / g KT / saat olarak saptanırken bakteri uygulamaları arasında 191,80 p-NP / g KT / saat ile *P. putida* ve 170,43 p-NP / g KT / saat ile *L. amnigena* uygulamaları en yüksek enzim aktivitesine sahip uygulamalar olarak ön plana çıkmışlardır. 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda kontrolde enzim aktivitesi 156,36 p-NP / g KT / saat olarak saptanırken *P. putida* ve *L. amnigena* uygulamaları da sırasıyla 170,68 ve 170,43 p-NP / g KT / saat olarak saptanmıştır. 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda *P. putida* ve *L. amnigena* uygulamaları sırasıyla 150,89 ve 151,56 p-NP / g KT / saat enzim miktarı ile diğer bakteri uygulamalarında daha fazla enzim içerdikleri belirlenmiştir. Alkalın fosfataz enzimi toprakta bulunan organik maddelerden fosfor açığa çıkmasını sağlayarak bitki gelişimini olumlu yönde teşvik etmektedir. Çalışmamız sonucunda *P. putida* ve *L. amnigena* bakterileri ile aşılana bitkilerin geliştiği saksılarda kontrole göre daha yüksek oranlarda alkalın fosfataz enzim aktivitesi belirlenmiştir. Rabie ve Almadini (2005) yaptıkları çalışmada artan tuz konsantrasyonlarına bağılı olarak alkalın fosfataz aktivitesinde azalma tespit ettiklerini ancak *A. brasillense* ile aşılana bitki kök bölgesinde fosfataz aktivitesinin arttığını saptadıklarını belirterek çalışmamızla benzer sonuçlar bulmuşlardır.

Çalışmamız kapsamında tuzlandırılan saksılarda β-glukosidaz enzim aktivitesi belirlenmiş ve artan tuz konsantrasyonlarına bağılı olarak toprakta β-glukosidaz enzim miktarının azaldığı belirlenmiştir. Tuz konsantrasyonları ile β-glukosidaz enzim miktarı arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($R^2=0,92$). Artan tuz

konsantrasyonlarına bağılı olarak β -glukosidaz enzim aktivitesi, 0,95 dS/m tuz konsantrasyonunda 130 μ g p-NP / g KT / saat, 3,98 dS/m tuz konsantrasyonunda 120,18 p-NP / g KT / saat, 7,80 dS/m tuz konsantrasyonunda 116,18 p-NP / g KT / saat ve 11,05 dS/m tuz konsantrasyonunda 103,53 p-NP / g KT / saat olarak belirlenmiştir. Bakteri uygulamalarının β -glukosidaz enzim miktarı üzerine olan etkileri anlamlı bulunmuş ve tüm tuz konsantrasyonlarında *P. putida* ve *A. arilaitensis* uygulamaları kontrol ve diğer bakteri uygulamalarından daha yüksek değerler vermişlerdir. Projemiz sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağılı olarak toprakta bulunan β -glukosidaz enzim miktarının azaldığı ve *P. putida* ve *A. arilaitensis* uygulamalarında β -glukosidaz enzim miktarının kontrol Uygulamalarına göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda toprakların çeşitli nedenlerle tuzlulaşması durumunda toprakta bulunan β -glukosidaz miktarının azaldığı saptanmıştır (Rietz ve Haynes, 2003, Jackson ve Vallaire, 2009,).

Çalışmamızda ACC deaminaz içeren bakterilerin buğday gelişimi üzerine olan etkileri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda artan tuz konsantrasyonlarına bağılı olarak buğday bitkisinde gelişimin gerilediği verim ve biyokimyasal parametrelerin ve iyon dengesinin bozulduğu saptanmıştır. Tuz stresi koşullarında ACC deaminaz içeren bakteriler ile buğdayın aşılması ile incelenen tüm parametrelerde iyileşmeler sağlandığı, bakterilerin buğdayın tuza olan toleransını artırdığı belirlenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız ACC deaminaz içeren bakteriler arasından *A. arilaitensis* ve *P.putida*'nın tuz stres koşullarında bitki gelişimini teşvik edebileceği ancak çalışmamız saksı koşullarında yapıldığı için bu çalışmanın tarla koşullarında uygulanması ve sonuçlarının ortaya konması gerekmektedir.

KAYNAKÇA

- Ahmad I., Ahmad F. and Khan M.S. (2008). Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microb. Res.* 171-183.
- Arshad M. and Frankenberger W.T. Jr. (1989). Biosynthesis of ethylene by *Acremonium falciforme*. *Soil Biol. Biochem.* 21; 633-638.
- Arshad M. and Frankenberger W.T. Jr. (2002). Ethylene: agricultural sources and applications. Kluwer Academic, New York.
- Ashraf, M. And Harris P.J.C. (2005). Abiotic Stresses Plant Resistance Through Breeding and Molecular Approaches. Food Products Press., 1-56022-965-9.
- Balota M., Cristescu S., Payne W.A., Hekkert S.L., Laarhoven L.J.J., Harren F.J.M (2004) . Ethylene production of two wheat cultivars exposed to desiccation, heat and paraquat induced oxidation. *Crop Sci* 44:812–818.
- Bashan Y., Kamnev A.A. and Bashan L.E. (2013). Tricalcium phosphate is inappropriate as a universal selection factor for isolating and testing phosphate-solubilizing bacteria that enhance plant growth: a proposal for an alternative procedure. *Biol Fertil Soils*. 49:465–479
- Bates L., Waldren R.P., Teare I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant Soil* 39:205–207
- Bayram M. (2016). *Tuza tolerant bazı domates genotiplerinin arazi performanslarının belirlenmesi*. Yayınlanmamış doktora tezi. Adana.Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Belimov A.A., Safronova V.I. and Mimura T. (2002). Response of spring rape (*Brassica napus* var. *oleifera* L.) to inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase depends on nutrient status of the plant. *Can. J. Microbiol* 48:189–199.
- Bleecker A.B and Kende H.(2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual Rev.Cell.Dev. Biol.*16:1-18.

- Bharucha U., Patel K., and Trivedi U.B. (2013). Optimization of indol acetic production by *Pseudomonas putida* ub1 and effects as pgpr on mustard. *Agris. Res.* 2;215-221.
- Caba J.M., Recalde L. and Ligerio F. (1998). Nitrate induced ethylene biosynthesis and control of nodulation in alfalfa. *Plant cell Environ.* 21; 87-93.
- Cartieaux F., Thibaud M.C., Zimmerli L., Lessard P., Sarrobert C., David P., Gerbaud A., Robaglia C., Somerville S., Nussaume L. (2003). Transcriptome analysis of *Arabidopsis* colonized by a plantgrowth promoting rhizobacterium reveals a general effect on disease resistance. *Plant J.* 36:177–188.
- Cappucino J.C and Sherman N. (1992). In microbiology A laboratory manual. Benjamin/cumming Pub.Co. New York . 125-179
- Chakraborty U., Chakraborty B., Dey P., Chakraborty A.P. (2015). Role of microorganisms in alleviation of abiotic stresses for sustainable agriculture. In: Chakraborty U, Chakraborty B (eds) *Abiotic stresses in crop plants*. CABI, Wallingford/Boston.
- Chandra, A., Pathak, P.S., Bhatt, R.K., Dubey, A (2004). Variation in drought tolerance of different *Stylosanthes* accessions. – *Biol. Plant.* 48: 457-460,
- Cheng Z., Park E. and Glick B.R. (2007). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J Microbiol* 53(7):912–918.
- Chookietwattana K. and Kedsukon M. (2012). Selection of efficient salt-tolerant bacteria containing ACC deaminase for promoting of tomato growth under salinity stres. *Soil and Environment* 31; 30-36
- Cicek N and Cakirlar H (2002). The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulg J Plant Physiol* 28(1–2):66–74.
- Çakmakçı, R., Dönmez, F., Aydın, A., Şahin, F. (2005). Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38 (6), 1482-1487

- Çakmakçı, R., Turan, M., Güllüce, M., Şahin, F.(2014). Rhizobacteria for reduced fertilizer inputs in wheat (*Triticum aestivum* spp. *vulgare*) and barley (*Hordeum vulgare*) on Aridisols in Turkey. International Journal of Plant Production, 8 (2), 163-181
- Daşgan H.Y. (2008). İklim Değişikliğinin Sebze Tarımına Etkileri (Yüksek Sıcaklık Stresi). VII. Sebze Tarımı Sempozyumu, Yalova
- Datta K.S., Varma S.K., Angrish R., Kumar B., Kumari P. (1998). Alleviation of salt stress by plant growth regulators in *Triticum aestivum* L. Biol Plant 40:269–275.
- Dey R., Pal K., Bhat D.M. Cauhan M. (2004). Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. Mic. Res. 159;371-394.
- Dinç, U. ve Şenol, S., (1997). Toprak Etüd ve Haritalama. Ç.Ü.Ziraat Fakültesi Ders Kitapları Yayın No: 50, Adana.
- Francois L.E., and MAAS, E.V. (1994). Crop Response and Management on Salt-Affected Soils. In Handbook of Plant Crop Stress. M. Pessarakli (Ed.). NewYork. Marcel Dekker, pp. 149-181.
- Gao L., Kong F., Wang J., Gao J., Shen G., Chang C. (2016). Isolation, Characterization, and Growth Promotion of Phosphate-Solubilizing Bacteria Associated with *Nicotiana Tabacum* (Tobacco). Pol. J. Environ. Stud. . 25; 993-1003
- Gautier H., Lauri F.L., Massot C., Murshed R., Marty I., Keller C.,Sallanon N. (2010). Impact of ripening and salinity on tomatofruit askorbate content and enzymatic activities relatd to askorbate recycling. Functional Plant Science and Biotech. 66-75.
- Glick B.R. and Bashan Y. (1997). Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of fungal phytopathogens. Biotechnol Adv 15:353–378

- Glick B.R., Penrose D.M. (1997). Enzyme that regulate ethylene 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase, ACC synthase and ACC oxydase. *Indian J. Exptl. Biol.* 35:1-17.
- Glick B.R., Penrose D.M, Li J. (1998). A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J Theor Biol* 190:3–68
- Glick B.R., Patten C.L., Holgiun G., Penrose D.M (1999). Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College Press, London.
- Glick B.R., Cheng Z. and Park E. (2007). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can. J Microbiol* 53:912–918
- Glick B.R. (2013). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research.* 30-39
- Gobbelaar N., Clarke B. and Hough M.C. (1971). The nodulation and nitrogen fixation of isolated roots of *Phaseolus vulgaris* L. III. The effect of carbon dioxide and ethylene. *Plant Soil (specialvol)*:215–223.
- Gupta C.P., Dubey R.C. and Maheshvari D.K. (2002). Plant growth enhancement and suppression of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot of peanut by fluorescent *Pseudomonas*. *Biol Fertil Soils* 35:399–405.
- Ghosh S., Penterman J.N., Little R.D., Chavez R., Glick B.R. (2003). Three newly isolated plant growthpromoting bacilli facilitate the seedling growth of canola, *Brassica campestris*. *Plant Physiol. Biochem* 41:277–281.
- Hasnain S, Sabri AN (1996) Growth stimulation of *Triticum aestvum* seedlings under Cr-stress by nonrhizospheric *Pseudomonas* strains. Abstract Book of 7th international symposium on nitrogen fixation with non-legumes. Faisalabad, Pakistan, 36p
- Hameda B., Kumar Y.H., Poole P.S.(2006). Effect of Carbon Substrat on rock phosphate solubization by bacteria from compost and macrofauna. *Curr microbiology.* 53:298-302.

- Heath R. and Packer L. (1968). Photooxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys .125:189–98.
- Holguin G. and Glick B.R. (2001). Expression of the ACC deaminase gene from *Enterobacter cloacae* UW4 in *Azospirillum brasilense*. Microb. Ecol. 41(3):281–288.
- İnal A., Güneş, A., Alparslan M., Eraslan, F., Çiçek, N. (2006). Bilimsel Araştırma Projesi Kesin Raporu. Ankara Üniv. Bilimsel Araştırma Projeleri. Proje No: 20030711084.
- Iqbal MA, Khalid M, Shahzad SM, Ahmad M, Soleman N, Akhtar N (2012) Integrated use of *Rhizobium leguminosarum*, plant growth promoting rhizobacteria and enriched compost for improving growth, nodulation and yield of lentil (*Lens culinaris medik.*). Chil J Agric Res 72:104–110
- Jackson R. C. and Vallaire S. (2009). Effects of Salinity and Nutrients on Microbial Assemblages in Louisiana Wetland Sediments. Bione. Wetlands. 227-238
- Jacobson C.B., Pasternak J.J., Glick B.R (1994). Partial purification and characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. Can J Microbiol 40:1019–1025.
- James R.A., Blake C., Byrt C.S., Munns R. (2011). Major genes for Na exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. J Exp Bot 62:2939–2947.
- Jiménez-Bremont J.F., Becerra-Flora A., Hernández-Lucero E., Rodríguez-Kessler M., Acosta-Gallegos J.A., Ramírez- Pimentel, J.G. (2006). Proline accumulation in two bean cultivars under salt stress and the effect of polyamines and ornithine. - Biol. Plant. 50: 763-766.
- Jha CK, Saraf M. (2011). In vitro evaluation of indigenous plant growth promoting rhizobacteria isolated from *Jatropha curcas* rhizosphere. Int J Genet Eng Biotechnol 2(1):91–100

- Joseph B., Lawrence R. and Patra R.R. (2007). Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.) International Journal of Plant Production. 2 ; 141-151.
- Kalaji, M.H., and Pietkiewica, S. (1993). Salinity effects on plant growth and other physiological processes. Acta Physiologia Plantarum, 15, 89-124.
- Karthikeyan S., Zhao Z., Kao C., Zhou Q., Tao Z., Zhang H., Liu H. (2004). Structural Analysis of 1-Aminocyclopropane-1- Carboxylate Deaminase: Observation of an Aminyl Intermediate and Identification of Tyr 294 as the Active-Site Nucleophile. Angew. Chem. Int.Ed. 43;3425-3429.
- Kasotia A, Varma A, Choudhary DK (2015) Pseudomonas mediated mitigation of salt stress and growth promotion in Glycine max. Agric Res 4:31–41
- Kaydan D., Yağmur M. and Okut N.(2007). Effects of Salicylic Acid on the Growth and Some Physiological Characters in Salt Stressed Wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarım bilimleri dergisi, 13 (2) 114-119
- Koç A. (2015). Effect of plant growth-promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on lipid peroxidation and total phenolics of strawberry (*Fragaria × ananassa* ‘San Andreas’) under salt stres. Turkish Journal of Agriculture and Forestry. 992-998
- Kıani M.Z., Sultan T., Ali A., Rızvı Z.F (2016). Application of acc-deaminase containing PGPR improves sunflower yield under natural salinity stres. Pak. J. Bot., 48: 53-56.
- Kim S.Y and Mulkey T.J. (1997). Effect of ethylene antagonists on auxin-induced inhibition of intactprimary root elongation in maize (*Zea mays* L.). J Plant Biol 40:256–260.
- Kumkari S.,Varma A.,Tuteja N., Choudary D.K (2016). Bacterial ACC deaminase; An eco-frendly strategy to cope abiotic stresses for sustainable agriculture. Plant-Microbe interaction . 165-185.
- Kremer R.J. and Souissi T. (2001). Cyanide production by rhizobacteria and potential for suppression of weed seedling growht. Curr. Microbiology. 43; 182-186

- Larcher W. (1995). *Physiological Plant Ecology*, 3rd ed. Springer, NY.
- Lege K. L., Cothren J.T. and Morgan P.W. (1997). Nitrogen fertility and leaf age effects of ethylene production of cotton. *Plant Growth regul.* 22;23-28
- Lichtenthaler HK. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350–82.
- Ligero F., Poveda J.L., Gresshoff P.M., Caba J.M. (1999). Nitrate and inoculation enhanced ethylene biosynthesis in soybean roots as a possible mediator of nodulation control. *J Plant Physiol* 154:482–488.
- Ludueña M.L., Anzuay M.S., Angelini J.G., Barros M., Luna M.F., Monge M. P., Fabra A., Taurian T (2006). Role of Bacterial pyrroloquinoline quinone in phosphate solubilizing ability and in plant growth promoting on strain *Serratia* sp. *S119. Symbiosis* 72; 31-43
- Lutts S., Kinet J. and Bouharmont J. (1996). Ethylene production by leaves of rice (*Oryza sativa* L.) in relation to salinity tolerance and exogenous putrescine application. *Plant Sci* 116:15–25.
- McKeon T.A. and Yang S.F. (1982). The effect of plant hormone pretreatments of ethylene production and synthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in water stressed wheat leaves. *Planta* 155, 437-443.
- Maas EV, Hoffman GJ (1977) Salt tolerance current assessment. *J Irrig Drainage Div Am Soc Civil. Eng.* 103:115–134.
- Mayak S., Tirosh T. and Glick B.R. (1999). Effect of wild-type and mutant plant growth promoting rhizobacteria on the rooting of mung bean cuttings. *J Plant Growth Regul* 18:49–53.
- Mayak S., Tirosh T. and Glick B.R. (2004). Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiol Biochem* 42:565–572.
- Minami R., Uchiyama., Murakami T., Yamata T., Honna M. (1998). Properites sequence and synthesis in *E. coli* of *Hanselnula starnus*. *J. Biochem.* 123;1112-1118.

- Munns R. And Tester M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance, Annual Review of Plant Biology, 59: 651-681.
- Maheswari K.D (2012). Bacteria in abgrobilogy: plant stres management. Springer Heidelberg Dordrecht London New York.
- Nadeem S.M., Zahir A.Z., Naved M., Arshad M (2007). Preliminary investigations on inducing salt toleranca in maize trough inoculation with rhizobacteria containing ACC deaminase activity. NRC Research pres.1141-1149.
- Neilands J.B (1995). Siderophores: Structure and Function of Microbial Iron Transport Compounds. The journal of biological chemistry.26723-26726.
- Orcutt D.M. and Nilsen E.T. (1996). The physiology of plants under stres. Soil and biotic factors. John Wiley&Sons, inc. NY. pp: 177-237.
- Patten C. and Glick B. (1996). Bacterial biosynthesis of indole 3-acetic acid. Can J Microbiol 42:207–220.
- Patten C., Land B. and Glick B. R. (2002). Role of Pseudomonas putida indole acetic acid in development of the host plant root system. Appl Environ Microbiol 68:3745–3801.
- Penrose D.M. and Glick B.R. (2001). Levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in exudates and extracts of canola seeds treated with plant growth promoting bacteria. Can J Microbiol 47:368–372.
- Penrose D.M. and Glick B.R. (2002). Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiologia plantarum.118;10–15.
- Pierik R, Tholen D, Poorter H, Visser EJ, Voesenek LA (2006) The Janus face of ethylene: growth inhibition and stimulation. Trends Plant Sci 11:176–183.
- Privalle L. S. and Graham J.S. (1987). Radiolabelling of a wound inducible pyrodoxal phosphate utiziling enzyme. Arch. Biochem.253;333-340.
- Prescot A.G. (1993). A dilemma dioxygenase.J. Exp. Bot.44;849-861.

- Rabie G.H. and Almadini A.M. (2005). Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stres. African J. biotech. 4; 210-222
- Rao A.,Ahmad S.D. Sabir S.M. , Awan S.I, Shah A.S., Abbas S.R., Sfaquie S., Khan F., (2013). Potential Antioxidant Activities Improve Salt Tolerance in Ten Varieties of Wheat (*Triticum aestivum* L.). American Journal of Plant Sciences, 24;, 69-76
- Raymond K.N., Dertz E.A and Klm S.S (2003). Enterobactin: An archetype for microbial iron transport. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0630018100
- Rietz D.N. and Haynes J.R (2003). Effects of irrigation-induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil biology and biochem. 35; 845-854
- Sairam R.K and Srivastava G.C. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stres. Plant Science 162 897-904
- Saravanakumar D. and Samiyappan R (2006). ACC deaminase from *Pseudomonas fluorescens* mediated saline resistance in groundnut (*Arachis hypogea*) plants. Journal of Applied Microbiology. 1283-1292
- Siddikee M.A. and Chauan P., (2011). Regulation of ethylene biosynthesis under salt stress in red pepper (*Capsicum annuum* L.) by 1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid (ACC) deaminase-producing halotolerant bacteria. J. Plant Growht Regul.142-148
- Sing R.P. and Jha P.N (2016). Mitigation of salt stress in wheat plant (*Triticum aestivum*) by ACC deaminase bacterium *Enterobacter* sp. SBP-6 isolated from *Sorghum bicolor*. Acta Physiol Plant. 38:110
- Sing R.P. Jha P. and Jha P.N (2017). Bio-inoculation of plant growth-promoting rhizobacterium *Enterobacter cloacae* ZNP-3 increased resistance against saltand temperature stresses in wheat plant (*Triticum aestivum* L.). J Plant Growth Regul. 142-151
- Schwyn B. and Nilands J.B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. Analytical Biochem. 47-56

- Shimila A., Charles T. and Glick B.R. (2014). Amelioration of high salinity stress damage by plant growth-promoting bacterial endophytes that contain ACC deaminase. *Plant Physiology and Biochemistry*.80;160-167
- Sönmez B. (2011). Çorak Toprakların ıslahı ve yönetimi. *Bilim ve Aklın Aydınlığında Eğitim*, 134, 52-56.
- Suarez C., Cardinale M., Ratering S., Steffens D., Jung S., Montoya A.M.Z., Geisler-Plaum R., Schnell S. (2015). Plant growth-promoting effects of *Hartmanniella* *plum* on summer barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Applied Soil Ecology*. 95;23-30
- Shaharoona B. (2006). Effect of plant growth promoting rhizobacteria containing ACC-deaminase on maize (*Zea mays* L.) growth under axenic conditions and on nodulation in mung bean (*Vigna radiata* L.). *Letters in Applied Microbiology*.42: 155-162.
- Sharp R.E. (2002). Interaction with ethylene: changing views on the role of abscisic acid in root and shoot growth responses to water stress. *Plant Cell Environment* 25:211–222.
- Safronova V.I., Stepanok V.V., Engqvist G.L., Alekseyev Y.V., Belimov A.A. (2006) . Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil. *Biol Fertil Soil* 42:267–272.
- Sönmez, B. (2004). Türkiye’de Çorak Islahı Araştırmaları ve tuzlu Toprakların Yönetimi. Sulanan alanlarda Tuzluluk Yönetimi Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 20-21 Mayıs, 2004, Ankara, s.157-162.
- Sobeih W.Y., Dodd I.C., Bacon M.A., Grierson D., Davies W.J. (2004). Long-distance signals regulating stomatal conductance and leaf growth in tomato (*Lycopersicon esculentum*) plants subjected to partial root-zone drying. *J. Exp. Bot.* 55:2353–2363.
- Stevenson F. J. (2005). *Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients*. John Wiley and Sons, New York

- Tamimi S.M. (2016). BEffect of seed priming on growth and physiological traits of five Jordanian wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces under salt stres. Journal of Bioscience and Agriculture Research. 906-922.
- Tanji, K.K. (1990). Nature and Extend of Agricultural Salinity. In Agricultural Salinity Assessment and Management, K.K. Tangi (Ed.). New York. American Society of Civil Engineers, pp. 1-13.
- Tabatabai and Eivazi (1977). Methods of soil analysis. Chemical nd microbiological properties. Soil Science Society. 900-1000.
- Tüzüner A. (1990). Toprak ve su analiz laboratuvarları el kitabı. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Köy Hizmetleri Gnel Müdürlüğü. Ankara .
- Tripathi S.B., Gurumuthi K. And Panigrahi A.K (2007). Salinity induced changes in proline and betaine contents and synthesis in two aquatic macrophytes differing in salt tolerance. Biologia Plantarum 51; 110-115
- Watanabe T., Seo S and Sakai S. (2001). Wound-induced expression of a gene for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase and ethylene production is regulated by both reactive oxygen species and jasmonic acid in Cucurbita maxima. Plant Physiol Biochem 39:121–127.
- Wang P., Yang C.W., Shi D.C., Wang D.L (2008). Comparison of effects of salt and alkali stresses on the growth and photosynthesis of wheat. Photosynthetica 46 (1): 107-114,
- Van Loon L.C. and Glick B.R. (2004). Increased plant fitness by rhizobacteria. Molecular ecotoxicology of plants. Springer, Berlin, pp 177–205.
- Verbruggen N. and Hermans C. (2008). Proline accumulation in plants: a review. Amino Acids. 35:753–759.
- Yakıt S. ve Tuna A.L. (2006). Tuz Stresi Altındaki Mısır Bitkisinde (*Zea mays* L.) Stres Parametreleri Üzerine Ca, Mg ve K'nın Etkileri. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19(1), 59-67.

- Yang S.F., Hoffman N.E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol* 35:155–189.
- Zaat S.A.J., Van Brussel A.A.N., Tak T., Lugtenberg B.J., Kijne J.W. (1989). The ethylene-inhibitor aminoethoxyvinylglycine restores normal nodulation by *Rhizobium leguminosarum* biovar. *viciae* on *Vicia sativa* subsp. *nigra* by suppressing the thick and short roots' phenotype. *Planta* 177:141–150.
- Zahir A.Z., Ghani U., Naveed M., Nadeem S.M., Ashgar H. M. (2009). Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch. Microb.* 191; 415-424.
- Zhang H., Murzello C., Sun Y., Kim M.S., Xie X., Jeter R.M. (2010). Choline and osmotic-stress tolerance induced in *Arabidopsis* by the soil microbe *Bacillus subtilis* (GB03). *Mol Plant Microbe Interact* 23:1097–1104