

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYAL GÜBRE TASARIMI VE MAKARNALIK
BUĞDAYDA (TRITICUM DURUM DESF.) VERİM
DENEMELERİ

NİDA ARSLAN

DOKTORA TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF.DR.YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

TEMMUZ 2025

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MİKROBİYAL GÜBRE TASARIMI VE MAKARNALIK
BUĞDAYDA (TRITICUM DURUM DESF.) VERİM
DENEMELERİ

NİDA ARSLAN

DOKTORA TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK
ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: PROF.DR.YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

TEMMUZ 2025

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL

MICROBIAL FERTILIZER DESIGN AND YIELD TRIALS
IN DURUM WHEAT (TRITICUM DURUM DESF.)

NİDA ARSLAN

A THESIS OF DOCTORATE
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND
GENETICS

ADVISOR: PROF.DR.YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ

JULY 2025

DOKTORA JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun 30/06/2025 tarih ve 2025/34 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 21/07/2025 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Nida ARSLAN 'ın tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ

ÜYE

: Doç. Dr. Mine GÜL ŞEKER

ÜYE

:Dr. Öğr. Üyesi Bahar SOĞUTMAZ ÖZDEMİR

ÜYE

:Doç. Dr. Özlem AKKAYA

ÜYE

:Dr. Öğr. Üyesi Veysel SÜZERER

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR



*Anneme
ve Babama*

ÖZET

Kimyasal gübrelerin aşırı kullanımı, tarım topraklarının bileşimi üzerinde iki yönlü etkiye sahiptir. Birincisi, toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirir; ikincisi ise topraktaki mikrobiyal popülasyonda dengesizlik oluşturur. Bu etkiler ile birlikte ekolojik dengeyi bozarak verimliliğin düşmesine yol açabilmektedir. Ayrıca, kimyasal gübrelerin aşırı kullanımı, toprağın en düşük düzeyde verimli kullanılmasına neden olmaktadır. Bu durumun ekolojik açıdan en uygun çözümü, mikrobiyal gübrelerin geliştirilerek kimyasal gübre kullanımının en aza indirilmesidir. Bu doğrultuda, çalışmada tarafımızca izole edilen yerel Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR) ile mikrobiyal konsorsiyum oluşturulmuş ve bunların monokotil bir bitki olan durum buğdayı (*Triticum durum* Desf.) ile etkileşimleri araştırılarak verimlilik üzerindeki potansiyel etkileri değerlendirilmiştir. Söz konusu yerel PGPR izolatları Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırları içerisinde bulunan 6 farklı hububat ekim alanından izole edilerek toplamda 145 izolat elde edilmiş ve bu izolatlar içerisinde 48 izolatın PGB özellikleri (azot fiksasyonu, inorganik fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi, indol asetik asit üretimi, hidrojen siyanür (HCN) üretimi, biyofilm üretimi, amonyum üretimi ve çinko çözünürlüğü) taranmıştır. En iyi PGB özelliklere sahip 6 izolat seçildikten sonra 16SrDNA analizi ile tanımlamaları yapılmıştır. 16SrDNA sonuçlarına göre seçilen 6 izolat TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129 TSR5B-131 ve TSR6B-135; sırasıyla *Stenotrophomonas maltophilia*, ; *Bacillus* sp.; *Pseudomonas koreensis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas* sp. türlerine benzetilmiştir. Seçilen 6 izolatın birbirleri ile yaşayabilme özellikleri test edildiğinde TSR6B-135 izolatının diğer izolatlar ile uyumsuz olduğu görülmüş ve konsorsiyum gruplarına dahil edilmemiştir. Kalan 5 izolat kullanılarak, 2'li, 3'lü, 4'lü ve 5'li olmak üzere toplam 20 farklı mikrobiyal konsorsiyum oluşturulmuştur. Bu konsorsiyum grupları buğday bitkisine uygulanmış ve bitkilerin 6 hafta boyunca büyümeleri düzenli olarak takip edilmiştir. Takip süresi sonunda Büyüme parametreleri (sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün ve kök kuru ağırlıkları ile klorofil içerikleri (SPAD)) ölçülmüştür. Bu ölçümler sonucunda buğdayın büyümesini en fazla etkileyen (TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131) konsorsiyum grubunun olduğu tespit edilmiş ve sürgün uzunluğunda (%4.81), sürgün kuru ağırlığında (%19.3) ve klorofil içeriklerinde (%6.06) oranında artışlar gözlenmiştir. Bu konsorsiyum grubuna ayrıca Alev ağacı (*Photinia × fraseri* Dress.) bitkisinden izole edilen PGB_invit bakterisinin de eklenebilmesi için birlikte yaşayabilme özellikleri test edilmiş ve uygun bulunduktan sonra konsorsiyum grubuna dahil edilmiştir. Oluşturulan dörtlü mikrobiyal konsorsiyum ile üç farklı azot uygulamasında (%100, %75 ve %50) ve tekli izolatlarla %100 Azotlu gübre eklenerek gruplar oluşturulmuş ve her bir grup üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Önerilen azot gübresinin %25 oranında azaltılarak mikrobiyal konsorsiyum ile desteklenmesi sonucunda bitki boyunda (%8.36), başak sayısında (%64.2), dane çapında (%10.8), bin dane ağırlığında (%5.70) ve hektolitreye ağırlığında (%33.10) artış gözlenmiştir. Ayrıca mikrobiyal konsorsiyum ile tek suşlu uygulamalar karşılaştırıldığında, konsorsiyumun buğday verimini artırmada daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, sürdürülebilir tarımda kimyasal gübre kullanımının azaltılabileceğini ve mikrobiyal konsorsiyumun buğday yetiştiriciliğinde biyogübre olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Azot Gübresinin Azaltılması, Mikrobiyal Konsorsiyum, Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler, Makarnalık Buğday, Verim.

ABSTRACT

The excessive use of chemical fertilizers has a twofold effect on the composition of agricultural soils. First, it alters the physical and chemical properties of the soil; second, it creates an imbalance in the microbial population in the soil. These effects can disrupt the ecological balance and lead to a decrease in productivity. Furthermore, the excessive use of chemical fertilizers results in the least efficient use of the soil. The most ecologically appropriate solution to this situation is to minimize the use of chemical fertilizers by developing microbial fertilizers. In this regard, a microbial consortium was created using locally isolated Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their interactions with durum wheat (*Triticum durum* Desf.), a monocotyledonous plant, were investigated to evaluate their potential effects on productivity. The local PGPR isolates in question were isolated from 6 different cereal cultivation areas within the boundaries of Tekirdağ Süleymanpaşa district, yielding a total of 145 isolates. Among these isolates, 48 isolates were screened for PGB properties (nitrogen fixation, inorganic phosphate solubilization, siderophore production, indole acetic acid production, hydrogen cyanide (HCN) production, biofilm production, ammonium production, and zinc solubility) were screened. After selecting the 6 isolates with the best PGB properties, their identification was performed using 16SrDNA analysis. Based on 16S rDNA results, the six selected isolates TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129, TSR5B-131, and TSR6B-135 were respectively identified as *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus* sp., *Pseudomonas koreensis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, and *Pseudomonas* sp. When the compatibility of the selected 6 isolates with each other was tested, the TSR6B-135 isolate was found to be incompatible with the other isolates and was not included in the consortium groups. Using the remaining five isolates, a total of 20 different microbial consortia consisting of 2, 3, 4, and 5 strains were created. These consortia were applied to wheat plants, and the growth of the plants was regularly monitored over a period of six weeks. At the end of the monitoring period, growth parameters including shoot length, root length, shoot and root dry weights, and chlorophyll content (SPAD) were measured. These measurements revealed that the consortium group most affecting wheat growth (TSR3A-34, TSR5B-129, and TSR5B-131) resulted in increases in shoot length (4.81%), shoot dry weight (19.3%), and chlorophyll content (6.06%). The PGB_invit bacterium, isolated from the Fraser's Photinia (*Photinia × fraseri* Dress.), was also tested for compatibility with this consortium group and, after being found suitable, was included in the consortium group. Four microbial consortium were created with three different nitrogen applications (100%, 75% and 50%) and single isolates were treated with 100% nitrogen fertilizer. Each group was repeated three times. As a result of supporting the recommended nitrogen fertiliser with a 25% reduction and the microbial consortium, increases were observed in plant height (8.36%), spike number (64.2%), grain diameter (10.8%), thousand-grain weight (5.70%), and hectolitre weight (33.10%). Furthermore, when microbial consortium applications were compared to single-strain applications, the consortium was found to be more effective in increasing wheat yield. These results indicate that chemical fertiliser use can be reduced in sustainable agriculture and that microbial consortium can be used as biofertilisers in wheat cultivation.

Keywords: Reduction of Nitrogen Fertiliser, Microbial Consortium, Plant Growth-Promoting Rhizobacteria, Durum Wheat, Yield

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim süresince, bana bilgi ve tecrübeleriyle akademik gelişimime büyük katkılar sağlayan değerli danışmanım Prof. Dr. Yelda Özden Çiftçi' ye, Mikrobiyoloji alanındaki derin bilgi ve tecrübelerini benimle her zaman paylaşan, yolumu aydınlatan Doç. Dr. Mine Gül Şeker'e, her zaman destek olan ve yönlendirmeleriyle katkıları olan Doç. Dr. Özlem Akkaya'ya ve üzerimde büyük emeği, inancı olan değerli Prof. Dr. Ayşegül Gürek'e,

Mikrobiyota laboratuvarındaki çalışmalarında sağladıkları sürekli desteklerinden dolayı değerli laboratuvar arkadaşlarım Sena Acet Erdem, Tuğçe Arıt Düzel, İlkay İlhan, Mihriban Aydoğan Gemici ve Seray Topçu Yılmaz'a,

Bitki biyoteknoloji laboratuvarında bana destekleri olan değerli laboratuvar arkadaşlarım Kübra Ulutaş Bayar, Şüheda Ebrar Yılmaz, Burak Akgül, Erdem Emre Deligöz ve tüm bu süreç boyunca destekleri olan laboratuvar arkadaşlarıma,

2008 yılında başlayan dostluklarımızla, her zaman moral kaynağım olan, cesaret ve motivasyon desteklerini esirgemeyen dostlarım Şahgöl Candan Başkurt, Belemir Nermin Anıl, Halime Yaşar, Ayşe Candan ve kuzenim Asuman Turna'ya, Beni bugünlere getiren her zaman daha iyi yerlerde olmam için çabalayan, desteklerini esirgemeyen çok kıymetli aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	2
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. Tarımda Gübreleme Uygulamaları	4
2.2. Kimyasal Gübrelerin Tarımsal Üretime Katkıları ve Riskleri	4
2.3. Mikrobiyal Gübre Uygulamaları ve Tarımsal Performansları	6
2.3.1. Mikrobiyal Gübre İçeriğinde Bulunan Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler [Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)]	7
2.3.1.1. PGPR 'ların Bitki Gelişimine Sağladığı Etki Yolları	7
2.3.1.1.1. Azot Fiksasyonu	8
2.3.1.1.2. İnorganik Fosfat Çözünürlüğü	9
2.3.1.1.3. Siderofor Üretimi	10
2.3.1.1.4. İndol Asetik Asit Üretimi	12
2.3.1.1.5. Biyofilm Üretimi	13
2.3.1.1.6. Amonyum Üretimi	13
2.3.1.1.7. Hidrojen Siyanür (HCN) Üretimi	14
2.3.1.1.8. Çinko Çözünürlüğü	14
2.4. Buğday Bitkisi	16
2.4.1. Eminbey (<i>Triticum durum</i> Desf.) Makarnalık Buğday Çeşidinin Karakteristikleri	18
2.5. Mikrobiyal Gübrelerin Buğday Üzerinde Etkilerini İnceleyen Çalışmalar	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.1.1. Çalışmada Yer Alan Mikroorganizma Suşları	23
3.1.2. Tohum	23
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Malzemeler Ve Ekipmanlar	23
3.1.3.1. Kimyasallar	24
3.1.3.2. Cihazlar	27
3.1.3.3. Ayıraçlar	28
3.1.3.4. Çözeltiler	28
3.1.3.5. Boyalar	30
3.1.3.6. Kit ve Reaktif	31

3.1.3.7. DNA Moleküler Belirteçleri	31
3.1.3.8. Besiyerleri	31
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Toprak Örneklerinin Alınması	35
3.2.2. Topraktan Bakteri İzolasyonu	35
3.2.3. Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyon	36
3.2.3.1. Gram Boyama	36
3.2.3.2. Spor Boyama	37
3.2.3.3. Oksidaz Testi	38
3.2.3.4. Katalaz Testi	39
3.2.4. İzolatların Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Araştırılması	39
3.2.4.1. Azot Fiksasyonu	39
3.2.4.2. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)	40
3.2.4.3. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kantitatif)	40
3.2.4.4. Siderofor Üretimi (Kalitatif)	41
3.2.4.5. Siderofor Üretimi (Kantitatif)	42
3.2.4.6. Amonyum Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)	42
3.2.4.7. IAA Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)	43
3.2.4.8. HCN Üretimi (Kalitatif)	43
3.2.4.9. Çinko Çözebilme (Kalitatif)	43
3.2.4.10. Biyofilm Üretimi	44
3.4.5. Oluşturulacak Olan Mikrobiyal Konsorsiyum Aday İzolatların Seçilmesi Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması	44
3.4.5.1. Genomik DNA İzolasyonu	44
3.4.5.2. DNA Miktarının Belirlenmesi	45
3.4.5.3. DNA'nın Agaroz Jelde Yürütülmesi	45
3.4.5.4. 16SrDNA Dizisinin PZR ile Çoğaltılması	45
3.4.6. Seçilen İzolatların Fizyolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyonlarının Belirlenmesi	47
3.4.6.1. Hareketlilik Testi	47
3.4.6.2. Glukoz Kullanımı / Glukozdan Gaz Oluşumu	47
3.4.6.3. Sitrat Kullanımı	48
3.4.6.4. Nişasta Hidrolizi	49
3.4.7. Seçilen İzolatların <i>In vitro</i> Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi	50
3.4.8. Kurulan Mikrobiyal Konsorsiyumların Buğday Bitkisinin Kısa Süreli Büyümesine Etkisi (6 Hafta)	50
3.4.8.1. Tohum Sterilizasyonu	50
3.4.8.2. Seçilen İzolatlar ile Farklı Mikrobiyal Konsorsiyumların Oluşturulması	51
3.4.8.3. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumların Buğday Bitkisine İnokülasyonu	52
3.4.8.4. Buğday Bitkisinin Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi	52
3.4.9. Seçilen İzolatlar ile İki Farklı Konsorsiyum Grupları Oluşturulması	53

3.4.10. Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisinin <i>In vitro</i> Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi	53
3.4.11. Seçilen İzolatlar ile Oluşturulan Konsorsiyum Gruplarının Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi	53
3.4.11.1. Azot Fiksasyonu	53
3.4.11.2. Siderofor Üretimi	54
3.4.11.3. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)	54
3.4.11.4. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kantitatif)	54
3.4.11.5. İndol Asetik Asit Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)	54
3.4.11.6. Biyofilm Üretimi	54
3.4.11.7. Amonyum Üretimi	54
3.4.12. Buğday Bitkisinin Uzun Süreli Araştırılması (20 hafta)	55
3.4.12.1. Deney Kurulumu	55
3.4.12.2. Tohum Sterilizasyonu	55
3.4.12.3. Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisi ile Mikrobiyal Konsorsiyumun Oluşturulması	55
3.4.12.4. Deney Tasarımı	56
3.4.13. Verim ve Kalite Parametreleri	58
3.4.13.1 Verim Parametreleri	58
3.4.13.1.1. Bitki Boyu	58
3.4.13.1.2. Bayrak Yaprak Alanı	58
3.4.13.1.3. Başakta Başakçık Sayısı	58
3.4.13.1.4. Başak Sayısı	58
3.4.13.1.5. Başak Boyu	59
3.4.13.1.6. Başakta Dane Sayısı	59
3.4.13.1.7. Başak Başına Dane Verimi	59
3.4.13.2. Kalite Parametreleri	59
3.4.13.2.1. Bin Dane Ağırlığı, Nem Miktarı, Dane Boyutu ve Sertlik Değeri	59
3.4.13.2.2. Hektolitre Ağırlığı	59
3.4.13.2.3. Renk Değeri (L*,a*,b*)	59
3.4.13.2.4. Protein Oranı Tayini (%km)	60
3.4.14. İstatistiksel Analiz	60
4. BULGULAR	61
4.1. Toprakdan Örneklerin Alınması	61
4.2. Toprakdan Bakteri İzolasyonu	61
4.3. İzolatların Morfolojik ve Biyokimyasal Ön Tanımlama Test Sonuçları	62
4.4. İzolatların Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Araştırılmasına Yönelik Testlerin Sonuçları	62
4.4.1. Azot Fiksasyonu	62
4.4.2. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)	64
4.4.3. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kantitatif)	65
4.4.4. Siderofor Üretimi (Kalitatif)	67
4.4.5. Siderofor Üretimi (Kantitatif)	68
4.4.6. Amonyum Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)	70
4.4.7. IAA Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)	71

4.4.8. HCN Üretimi (Kalitatif)	73
4.4.9. Çinko Çözebilme (Kalitatif)	75
4.4.10. Biyofilm Üretimi	76
4.5. Oluşturulacak Olan Mikrobiyal Konsorsiyum Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması	78
4.5.1. Genomik DNA İzolasyonu	79
4.5.2. DNA'nın Agaroz Jelde Yürütülmesi	79
4.5.3. DNA Miktarının Belirlenmesi	80
4.5.4. 16SrDNA Dizisinin PZR ile Çoğaltılması	80
4.6. Seçilen İzolatların Biyokimyasal Karakterizasyonlarının Belirlenmesi ile İlgili Sonuçlar	81
4.7. Seçilen İzolatların <i>In vitro</i> Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi	83
4.8. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumun Buğday Fidelerinin Büyümesine Etkilerinin Taranması	86
4.9. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumun Bitki Büyümesi Üzerindeki Etkileri	86
4.10. Seçilen İzolatlar ile İki Farklı Konsorsiyum Gruplarının Oluşturulması	91
4.10.1. Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisinin <i>In vitro</i> Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi	92
4.10.2. Seçilen İzolatlar ile Oluşturulan Konsorsiyum Gruplarının Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi	93
4.10.2.1. Azot Fiksasyon Yeteneklerinin Kalitatif Test Sonuçları	93
4.10.2.2. Siderofor Üretiminin Kalitatif Test Sonuçları	94
4.10.2.3. İnorganik Fosfat Çözebilme Yeteneklerinin Kalitatif Test Sonuçları	96
4.10.2.4. İnorganik Fosfatı Çözebilme Yeteneklerinin Kantitatif Test Sonuçları	97
4.10.2.5. İndol Asetik Asit Üretiminin Kalitatif ve Kantitatif Olarak Belirlenmesine Yönelik Sonuçlar	98
4.10.2.6. Biyofilm Üretme Yeteneklerinin (Kantitatif) Belirlenmesine Yönelik Sonuçlar	100
4.10.2.7. Amonyum Üretimi ile İlgili Elde Edilen Sonuçlar	100
4.10.3. Buğday Bitkisinin Uzun Süreli Gelişimlerinin (20 Hafta) Sonuçları	102
4.10.4. Verim ve Kalite Parametrelerinin Sonuçları	103
4.10.4.1. Bitki Boyu	103
4.10.4.2. Bayrak Yaprak Alanı	109
4.10.4.3. Başakta Başakçık Sayısı	111
4.10.4.4. Başak Sayısı	112
4.10.4.5. Başak Boyu	114
4.10.4.6. Başakta Dane Sayısı	115
4.10.4.7. Başak Başına Dane Verimi	117
4.10.4.8. Bin Dane Ağırlığı, Nem Miktarı, Dane Boyutu Ve Sertlik Değerinin Sonuçları	118
4.10.4.9. 1000 Dane Ağırlıkları	118

4.10.4.10. Nem Miktarı (%)	120
4.10.4.11. Dane Boyutu	121
4.10.4.12. Sertlik İndeksi	122
4.10.4.13. Renk Değeri (L^* , a^* , b^*)	123
4.10.4.14. Protein Oranı Tayini (%km)	124
4.10.4.15. Hektolitre Ağırlığı	125
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	127
5.1. Gelecek Öngöröleri	135
KAYNAKLAR	136
ÖZGEÇMİŞ	153
TEZ METNİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR	154
EKLER	155



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
<	: Küçük
>	: Büyük
°C	: Santigrat Derece
μ	: Mikro
μM	: Mikromolar
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
CAS	: Chrome Azurol S
CFU	: Colony Forming Unit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EPS	: Ekstraselüler Polisakkarit (Extracellular Polysaccharides)
dNTP	: Deoksinükleotid
Fe	: Demir
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
g	: Gram
ha	: Hektar
hl	: Hektolitire
HCN	: Hidrojen Siyanür
HDTMA	: Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür
kg	: kilogram
km	: kuru madde
L	: Litre
LB	: Luria Bertani
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
mm	: Milimolar
MPYE	: Mineral Peptone Yeast Extract
nm	: Nanometre
NPK	: Azot (N), Fosfor (P) ve Potasyum (K)
OD	: Optic Density
PGP	: Bitki Büyüme Teşvik Edici (Plant Growth Promoting)
PGPR	: Bitki Büyüme Teşvik Edici Rizobakteriler (Plant Growth Promoting Rhizobacteria)
pH	: power of Hydrogen
ppm	: Milyonda bir birim
PVK	: Pikovskaya
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rDNA	: Ribozomal Deoksiribonükleik Asit
SIM	: Sülfid-Indol- Hareketlilik
TAE	: Tris Asetat EDTA
TSB	: Tryptic Soy Broth
UV	: Ultraviole
v/v	: Hacim/hacim

w/v	: Ağırlık/hacim
Zn	: Çinko
ZnO ⁻	: Çinko Oksit
ZSB	: Çinko Çözücü Bakteriler



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1: Buğdaya uygulanan mikrobiyal konsorsiyumların oluşturulma süreci ile verim ve kalite parametrelerine yönelik etkilerinin araştırılmasını özetleyen grafiksel gösterim.	3
Şekil 2.1: Bitki Gelişimini Teşvik edici Rizobakterilerin Etki Yolları: Doğrudan (Direkt) ve Dolaylı (İndirekt) Mekanizmalar.	8
Şekil 2.2: Zadoks Büyüme Skalası Gelişim Aşamaları.	17
Şekil 3.1: a) 6 Farklı bölgeden alınan toprak örnekleri , b) 30°C’de inkübe edilen toprak örnekleri, c) 37°C’de inkübe edilen toprak örnekleri.	35
Şekil 3.2: a) 37°C de inkübe edilen toprak örneklerinin (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) seri dilüsyonlarının LB besiyerine ekimi, b) 30°C’de inkübe edilen toprak örneklerinin (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) seri dilüsyonlarının LB besiyerine ekim.	36
Şekil 3.3: a) TSR1A-5 izolata ait Gram boyama (Gram negatif (-)) görüntüsü, b) TSR1A-4 izolata ait Gram boyama (Gram pozitif (+)) görüntüsü.	37
Şekil 3.4: TSR4B-117 izolata ait spor boyama görüntüsü.	38
Şekil 3.5: Oksidaz testi. a) Pozitif kontrol (<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692)(+), Negatif kontrol (<i>E.coli</i> K12)(-) b) Bazı izolatlara ait Oksidaz test sonuçları.	38
Şekil 3.6: Katalaz testi. a) Pozitif kontrol (<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213) (+++), b)Negatif kontrol (<i>Salmonella gallinarum</i>)(-), c) TSR1A-7 (+++), d) TSR1A-8 (+) ve e)TSR1A-9 (++)	39
Şekil 3.7: Seçilen 7 izolatın 10 gün sonunda Pikovskaya sıvı besiyerindeki görüntüleri.	41
Şekil 3.8 : Santrifüj sonrası Whatman kağıdında süzme işlemi.	41
Şekil 3.9: Elde edilen süzüntüye Barton reaktifi eklenmesi.	41
Şekil 3.10: Seçilen izolatlara ait Hareketlilik testi sonuçları.	47
Şekil 3.11: Glukoz kullanımı / Glukozdan Gaz Oluşumu.	48
Şekil 3.12: Seçilen izolatlara sitrat kullanım testi.	49
Şekil 3.13: a) TSR5B-129 izolatın Nişasta hidrolizi testi (+), b) TSR3A-34 izolata ait Nişasta hidrolizi testi (-).	49
Şekil 3.14: Buğday tohumlarına Mikrobiyal Konsorsiyum gruplarının aşılama evresi.	51
Şekil 3.15: 12 gün sonunda buğday bitkilerinin görünüşleri.	52
Şekil 3.16: Buğday tohumlarının sterilizasyonu ve vernalizasyon işlemi.	55
Şekil 3.17: İzolatların 0.5 McFarland standardına göre yaklaşık 10^8 CFU/mL yoğunlukta hazırlanması.	56
Şekil 3.18: Buğdayların saksılara ekim aşaması ve Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.	57

Şekil 3.19: Kardeşlenme döneminde kökten ve spreyleme yoluyla yapraktan Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.	57
Şekil 3.20: Sapa kalkma dönemi hemen öncesinde Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.	57
Şekil 3.21: 150 gün sonunda hasat dönemi.	58
Şekil 3.22: a) Tek Dane Karakterizasyon Sistemi (Single Kernel Characterization System), b) Renk ölçüm cihazı (Gardner MiniScan XE Plus).	60
Şekil 3.23: Buğday danelerinin öğütme işlemi.	60
Şekil 4.1: İzolatların Lokasyonlara göre dağılımı.	61
Şekil 4.2: Bazı izolatların farklı seviyelerde Nfb besiyerinde Azot Fiksasyon yeteneklerinin görünüşleri.	64
Şekil 4.3: Bazı izolatların Pikovskaya agar besiyerinde koloni etrafında oluşturdukları şeffaf zon görünüşleri.	65
Şekil 4.4: KH_2PO_4 ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerle standart eğri grafiği.	66
Şekil 4.5: Bazı izolatların Cas Blue Agar besiyerinde ürettikleri sideroforların görünüşleri.	68
Şekil 4.6: Üretilen Amonyum miktarının belirlenebilmesi için kullanılan standart eğri.	70
Şekil 4.7: Bazı izolatların kolorimetrik metod ile İndol asetik asit üretimi.	72
Şekil 4.8: Üretilen IAA miktarının belirlenebilmesi için kullanılan standart eğri.	72
Şekil 4.9: İzolatların HCN üretimlerinin kolorimetrik olarak gösterimi. a) İzolat TSR3B- 106'nın orta düzeyde (++) HCN üretimi, b) İzolat TSR6B-135'in güçlü (+++) HCN üretimi. PK: Pozitif kontrol (<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692), NK: Negatif kontrol (Bakteri ekimi yapılmayan).	74
Şekil 4.10: Bazı İzolatların ZnO- içeren besiyerinde koloni çevresinde şeffaf zon oluşumu ile çözünürlüğüne ait sonuçlar. PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif kontrol (Bakteri ekimi yapılmayan). a) TSR6B-145'e ait görüntü, b) TSR6B-135'e ait görüntü.	76
Şekil 4.11: İzolatların Kristal Viole Boyama Yöntemiyle 96 Kuyucuklu Mikro-Titer Plakada Biyofilm Oluşumunun görselleştirilmesi.	77
Şekil 4.12: Genomik DNA'ların agaroz jel elektroforezden elde edilen bant profilleri. 1) Lambda DNA/Hind III marker, 2) TSR3A-34, 3) TSR4A-51, 4) TSR3B-106, 5) TSR5B-129, 6) TSR5B-131, 7) TSRB-135.	79
Şekil 4.13: 27F/1491R evrensel primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılan 16S rDNA dizilerinin agaroz jel üzerindeki bant görüntüleri. 1) 100bp'lik marker, 2) TSR3A-34 3) TSR4A-51, 4) TSR3B-106, 5) TSR5B-129, 6) TSR5B-131, 7) TSR6B-135.	80
Şekil 4.14: TSR3A-34 kodlu izolatın diğer izolatlar birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.	84
Şekil 4.15: TSR4A-51 kodlu izolatın seçilen izolatlar ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirmesi.	84
Şekil 4.16: TSR3B-106 kodlu izolatın seçilen izolatlar birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.	84

Şekil 4.17: TSR5B-129 kodlu izolatin seçilen izolatlar ile yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.	85
Şekil 4.18: TSR5B-131 kodlu izolatin TSR5B-135 kodlu izolat ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.	85
Şekil 4.19: Vernalizasyon aşamaları. a) Buğday tohumlarının sterilizasyon sonrasında filtre kağıdına eklendikten sonra +4°C' de saklanması, b) 5 Gün boyunca +4 °C' de çimlenen buğday tohumları.	87
Şekil 4.20: Altı haftanın sonunda deneme gruplarının genel görüntüleri.	87
Şekil 4.21: Konsorsiyum gruplarının negatif kontrol grubu ile gövde uzunluklarının karşılaştırılması. a) D1, b)İ8, c)Ü1 ve d) Ü5 kodlu konsorsiyum gruplarının sürgün uzunluklarının görünümü.	88
Şekil 4.22: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin gövde uzunlukları.	88
Şekil 4.23: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin gövde kuru ağırlıklar.	89
Şekil 4.24: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin Klorofil miktarı (SPAD).	90
Şekil 4.25: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin kök uzunlukları.	90
Şekil 4.26: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin kök kuru ağırlıkları.	91
Şekil 4.27: PGB_invit bakterisinin seçilen TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131 kodlu izolatlar ile uyumluluklarının değerlendirilmesi.	92
Şekil 4.28: NfB besiyerinde iki farklı konsorsiyum gruplarının Azot fikse etme yeteneklerinin belirlenmesi. a) TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131 ile oluşturulan konsorsiyum, b) PGB_invit ve TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ile oluşturulan konsorsiyum, c) 7 gün sonunda Azot fikse etme yeteneklerinin derecelendirilmesi.	94
Şekil 4.29: Konsorsiyum gruplarının koloni etrafında CAS Blue agar besiyerinde oluşturduğu sarımtırak şeffaf zonlar.	95
Şekil 4.30: Konsorsiyum gruplarının Siderofor üretim indeksi.	95
Şekil 4.31: Konsorsiyum gruplarının Pikovskaya agar besiyerinde kuyucuklar etrafında oluşturduğu şeffaf zonlar.	96
Şekil 4.32: Konsorsiyum gruplarının İnorganik Fosfat çözebilme indeksleri.	97
Şekil 4.33: Konsorsiyum gruplarının Vanado-molibdo fosforik asit yöntemi ile test sonuçları.	97
Şekil 4.34: Konsorsiyum gruplarının inorganik fosfatı çözme miktarları.	98
Şekil 4.35: Kolorimetrik metod ile İndol asetik asit üretimi.	99
Şekil 4.36: Konsorsiyum gruplarının ürettikleri İndol asetik asit miktarları.	99
Şekil 4.37: Konsorsiyum gruplarının Kristal viole Absorbans değerleri ile biyofilm üretme kapasiteleri.	100
Şekil 4.38: Konsorsiyum gruplarının sarıdan kahverengiye renk değişimi ile Amonyum üretme yeteneklerini gösteren tüpler. Negatif kontrol (İnokülasyon yapılmayan).	101
Şekil 4.39: Konsorsiyum gruplarının Amonyum üretim miktarları (ppm).	102
Şekil 4.40: Bitki boy uzunlukları. (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit).	104
Şekil 4.41: Bitki boy uzunlukları. a) Negatif kontrol. b) %100 AN gübre içeren grup.	104

Şekil 4.42: Bitki boy uzunlukları. a)%100 AN içeren grup.b)%100 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup.	105
Şekil 4.43: Bitki boy uzunlukları. a) %75 AN içeren grup, b) %75 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup.	105
Şekil 4.44: Bitki boy uzunlukları. a) %50 AN içeren grup, b) %50 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup.	106
Şekil 4.45: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN +TSRA-34 içeren grup.	107
Şekil 4.46: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN+TSR5B-129 içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.	107
Şekil 4.47: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN+TSR5B-131 içeren grup.	108
Şekil 4.48: Bitki boy uzunlukları. a)%100 AN içeren grup. b) %100 AN+PGB_invit içeren grup.	109
Şekil 4.49: Bayrak yaprak alanları.	110
Şekil 4.50: Bazı deneme gruplarının bayrak yaprak alanlarının ölçümü. a) Negatif kontrol grubu, b) %100 AN içeren grup, c) %75 AN+MG içeren grup.	111
Şekil 4.51: Başakta başakçık sayıları.	112
Şekil 4.52: Başak sayıları.	113
Şekil 4.53: Deneme gruplarına ait başak sayılarının karşılaştırmalı görünümeleri. a) Negatif kontrol, b) %100 AN içeren grup, c) %100 AN+MG içeren grup, d) %75 AN+MG içeren grup, e) % 50 AN+ MG içeren grup, f) %100 AN+ TSR3A-34 içeren grup, g) %100 AN +TSR5B-129 içeren grup, h) %100 AN+TSR5B-131 içeren grup, ı) %100 AN+ PGB_invit içeren grup.	114
Şekil 4.54: Başak boy uzunlukları.	115
Şekil 4.55: Bazı deneme gruplarına ait başak boy uzunlukları görünümeleri.	115
Şekil 4.56: Başakta dane sayıları.	116
Şekil 4.57: Başakta dane verimi (g/başak).	118
Şekil 4.58: 1000 dane ağırlıkları.	119
Şekil 4.59: Nem miktarı (%).	120
Şekil 4.60: Dane çapları.	122
Şekil 4.61: Sertlik İndeksi.	123
Şekil 4.62: Buğday dane(kırma) renk değerleri (L*,a*,b*)	124
Şekil 4.63: Protein oranları	125
Şekil 4.64: Hektolitre ağırlıkları.	126

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler, temin edilen firmalar.	24
Tablo 3.2: Kullanılan cihazlar, modelleri ve firmaları.	27
Tablo 3.3: Kullanılan ayıraçlar ve firmaları.	28
Tablo 3.4: Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları.	28
Tablo 3.5: Kullanılan boyalar ve firmalar.	30
Tablo 3.6: Kullanılan Kit ve reaktif.	31
Tablo 3.7: Kullanılan DNA belirteçleri.	31
Tablo 3.8: Kullanılan besiyeri içerikleri.	32
Tablo 3.9: Kullanılan primer ve dizileri.	45
Tablo 4.1: Tekirdağ Süleymanpaşa ilçesindeki rizosferik toprak örneklerinin alındığı izolasyon noktaları.	61
Tablo 4.2: İzolatların Azot fiksasyon yeteneklerinin sonuçları.	63
Tablo 4.3: İzolatların İnorganik fosfat çözünürlük indexi ve fosfat çözebilme miktarları.	66
Tablo 4.4: İzolatların Siderofor indeks değerleri ve Üretim yüzdeleri (%).	69
Tablo 4.5: İzolatların Amonyum üretim miktarları.	71
Tablo 4.6: İzolatların İndol asetik asit üretimlerinin sonuçları (µg/mL).	73
Tablo 4.7: İzolatların HCN üretimi sonuçları.	75
Tablo 4.8: İzolatların Biyofilm üretme yeteneklerinin sonuçları.	77
Tablo 4.9: Seçilen izolatların Bitki büyüme teşvik edici özellikleri.	79
Tablo 4.10: İzolatların DNA örneklerinin NanoDrop sonuçları.	80
Tablo 4.11: NCBI veritabanı karşılaştırmasıyla 16S rDNA analizi sonuçları.	81
Tablo 4.12: İzolatların biyokimyasal test sonuçları.	82
Tablo 4.13: Seçilen izolatların Cross-streak plaka yöntemi kullanılarak birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirme sonuçları.	83
Tablo 4.14: Seçilen izolatlar ile oluşturulan konsorsiyum grupları.	86
Tablo 4.15: Seçilen izolatlar ile iki farklı konsorsiyum gruplarının üyeleri.	92
Tablo 4.16: Seçilen izolatların PGB _{invit} bakterisi ile Cross-streak plaka yöntemi birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirme sonuçları.	93
Tablo 4.17: Toprak analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.	103

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinin önemli bir bileşeni olan durum buğdayı, küresel temel gıda tedarikinin başında gelmektedir [Ibarra-Villarreal vd., 2023]. Ayrıca durum buğdayı unu, makarna yapımı için olağanüstü kalitesi ve uygunluğu ile tanınmaktadır [Mariem vd., 2020]. Dünya nüfusu 2050 yılına kadar arttıkça gıda talebinin tahmin edilmektedir [Ibarra-Villarreal vd., 2023]. Sonuç olarak, buğday üretiminin ve ekim alanlarının genişletilmesi elzem hale gelmektedir [Chen vd., 2022]. Üretimi artırmak için gübre kullanımının etkileri, bu yöndeki tarımsal araştırmaların ana odak noktasıdır [Keikha vd., 2023]. Durum buğdayının güçlü dane sertliği ve düşük pişirme kayıpları, onu arzu edilen bir tetraploid tür haline getirmektedir. Yüksek kaliteli buğday üretimini garanti altına almak için yoğun azot gübrelemesi gereklidir [Chen vd., 2023]. Dünya nüfusunun yaklaşık %50'si beslenme taleplerini karşılamak için azot gübrelemesine bağlıdır ve stratejik bir ürün olan buğdayın üretimini artırmak için bu gereklidir [Fathi, 2022; Feyisa vd., 2024]. Buğdaya belirli büyüme aşamalarında azotlu gübre uygulanmasının verimi büyük ölçüde arttırdığı biliniyor olsa da, bu gübrelerin aşırı veya yanlış kullanımı çevresel sürdürülebilirlik üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilir [Li vd., 2022]. Ayrıca, kimyasal gübrelere karşı aşırı bağımlılık toprak yapısının bozulmasına ve bu da sürdürülebilir tarım hedeflerine ulaşmayı son derece zorlaştırmaktadır [Asghar vd., 2023]. Bu tür faaliyetler toprağın organik madde içeriğinin azalmasına, toprak verimliliğinin düşmesine ve pH dengesinin bozulmasına bağlı olarak toprağı daha asidik hale getirebilir [Wang vd., 2020]. Mahsul verimini artırmak ve aşırı gübrelemenin olumsuz çevresel etkilerini azaltmak için, sürdürülebilir tarım tekniklerinde etkili azot yönetimi uygulamalarını içermelidir [Wang vd., 2023]. Böylelikle son yıllarda Kimyasal girdilerin çevresel etkilerini en aza indirmeyi ve bunlara olan bağımlılığı azaltmayı hedefleyen önemli bilimsel araştırma ve teknolojik gelişmeleri kapsayan sürdürülebilir tarımda bu alanda ilgide bir artış yaşanmıştır [Fathi, 2022].

Bu nedenle, tarımsal sistemlerin sürdürülebilirliğini korumak, uzun vadeli finansal kazançlar ve verimlilik elde etmek için çok önemlidir [Chen vd., 2022]. Olumsuz çevresel etkilerin azaltılması, üretkenliğin ve verimliliğin artırılması da sürdürülebilirliğin sağlanması için en önemli önceliklerdir [Galindo vd., 2022]. Çevre dostu mikrobiyal gübreler, kimyasal gübre ihtiyacını azaltmaları, topraktaki besin maddelerinin bitki tarafından alımını artırmaları ve mali açıdan uygun olmaları nedeniyle son zamanlarda ön plana çıkmaktadır [Asghar vd., 2023].

Bitki köklerini çevreleyen ve kök gelişimini etkileyen alan olarak bilinen rizosferde bulunan ve bitki büyümesini çeşitli yollarla destekleyen mikroorganizmalara Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR) olarak isimlendirilir [Chauhan vd., 2015]. PGPR'lar biyogübre olarak uygulanmasının, kimyasal girdilere olan bağımlılığın azalmasını ve gıda güvenliğini sağlama açısından önemli bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir [Kumar vd., 2021]. En yaygın PGPR 'lar *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lactobacillus*, *Serratia*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Paenibacillus*, *Rhodococcus*, *Herbaspirillum* ve *Acetobacter* yer almaktadır. Bu mikroorganizmaların bitkilerle kurduğu simbiyotik ilişkiler sayesinde bitkilerin kök bölgesinden karbonhidratlar, organik asitler ve mineraller içeren eksüdatlar salgılanırken, PGPR 'lar ise azot fiksasyonu, demir gibi mikro elementlerin şelasyonu, fosfat, potasyum ve çinko gibi besin elementlerinin çözünürleştirilmesi, IAA üretimi, kök gelişiminin teşviki ve etilen düzeyini azaltan enzimlerin sentezi yoluyla bitki büyümesini ve verimliliğini artırmaktadırlar [Aguilar-Paredes vd., 2020]. Yapılan çeşitli araştırmalar, mikroorganizmaların bitki gelişimini destekleyebileceğini, toprak kullanımında etkinliğini artırabileceğini ve patojen kaynaklı stresi azaltmaya yardımcı olabileceğini göstermektedir [Ebrahimi vd., 2023; Yang vd., 2024].

1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

Bu tez çalışması makarna, ırmik ve bulgurun ham maddesi olan makarnalık buğdayın (*Triticum durum* Desf.) büyüme ve gelişimini desteklemek amacıyla, bitki büyüme teşvik edici (PGP) özelliklere sahip bakterilerle oluşturulan mikrobiyal konsorsiyumların verimlilik üzerindeki etkilerinin artırılması araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırları içerisinde bulunan 6 farklı

hububat ekim alanlarından alınan rizosferik toprak örneklerinden bakteri izolasyonu yapıldı ve en iyi PGP aktivitesi gösteren izolatlar belirlenerek cins bazında tanımlandı. Seçilen izolatların birbirleri ile yaşayabilme özellikleri değerlendirilerek, yaşayabilen izolatlar ile 2'li, 3'lü, 4'lü ve 5'li konsorsiyum grupları oluşturuldu ve makarnalık buğday için en iyi büyüme etkinliği gösteren konsorsiyum grubu belirlendi. Ve bu konsorsiyum grubuna laboratuvarımızda alev ağacından izole edilen PGB_invit bakterisinin de dahil olabilmesi için uyumlulukları tespit edildi ve oluşturulan yeni mikrobiyal konsorsiyum grubu ile buğdayda verim ve kalite parametreleri üzerine etkileri değerlendirildi (Şekil 1.1).

Yapılan bu çalışma ile mikrobiyal gübre formülasyonlarında kullanılmaya uygun yerel izolatların eldesi ile literatüre kazandırılmış olup, oluşturulan mikrobiyal konsorsiyumlar ile buğday verimliliğini arttıracak çevre dostu, maliyeti düşük ve kolay uygulanabilir yeni bir biyogübre formülasyonu geliştirilerek bilim dünyasına önemli katkılar sunacaktır.



Şekil 1.1: Buğdaya uygulanan mikrobiyal konsorsiyumların oluşturulma süreci ile verim ve kalite parametrelerine yönelik etkilerinin araştırılmasını özetleyen grafiksel gösterim.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Tarımda Gübreleme Uygulamaları

İklim değışikliklerin olmasından dolayı, tarımsal üretimde yaşanan olumsuz etkilerden toprak verimliliğinde ve neminde azalmasına bağılı olarak gıda güvenliğini etkileyebilmektedir [Oneyeka vd., 2024]. Toprak verimliliğindeki azalma, özellikle gelişmekte olan ülkelerde gıda güvenliğini ve yoksullukla mücadeleyi önemli ölçüde etkilemekte olup, 2050 yılına kadar dünya nüfusunun yaklaşık 9.8 milyar olacağı tahmin edilmektedir; bu da tarımsal üretimin küresel ölçekte artırılmasına duyulan acil ihtiyacı vurgulamaktadır [Abebe vd., 2022]. Organik, inorganik veya sentetik gübrelerin uygulanması mahsul verimliliğinin artmasını sağladığı gibi bu gübreler, topraktaki besin element eksikliklerini doldurarak bitkilerin temel besin ihtiyaçlarını karşılamalarına yardımcı olduğu gibi bitki sağlığını iyileştirir, verimliliğini ve ürün kalitesini artırır [Górecki H., 2010; Krasilnikov vd, 2022; Abebe vd., 2022]. Ürün verimini artırmak ve potansiyel verimle gerçekleşen verim arasındaki farkı azaltmak, uygun gübre kullanımı ve etkili besin yönetimiyle mümkündür. Bu yöntemler, küresel gıda güvenliğinde önemli bir yere sahiptir [Penuelas vd., 2023].

2.2. Kimyasal Gübrelerin Tarımsal Üretime Katkıları ve Riskleri

Kimyasal gübrelerin, yüksek maliyetlerine rağmen verimi arttırıp gıda ihtiyacının karşılanmasına ve etkin bir şekilde kullanıldığında çevresel etkilerin azaltılmasına ve de sürdürülebilir tarım faaliyetlerinin devamlılığı açısından açıısından kritik öneme sahiptir [Abebe vd., 2022]. 2020 yılında Gübre tüketimi hakkında yapılan istatistiksel çalışma raporuna göre; Türkiye'de kimyasal gübre tüketimi %30.18 arttığı, miktar olarak ise 3.210.698 tona ulaştığı ve hektar başına yaklaşık 164 kg gübre kullanıldığı, ve aşırı gübre tüketiminin özellikle yerel ve sulu tarım alanlarında gerçekleştirildiği tespit edildiği raporlanmıştır [Web 1, 2025].

Kimyasal gübrelerin, bitkilerde verimliliğin artışını sağladığı hakkında önemli katkıları olduğu vurgulanmaktadır [Guo ve Wang, 2021]. Bitkiler, optimum büyüme ve verimli üretim için başta Hidrojen, Oksijen, Karbon ve Azot olmak üzere yaklaşık

17 temel besin elementlerinin, bitkilerin ihtiyaç duyduğu miktarlara göre makro ve mikro elementler olarak sınıflandırılmaktadır. Azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum ve kükürt makro besin elementleri olup, bu elementler bitki gelişimi için yüksek miktarlarda gereklidir. Bu nedenle, özellikle NPK (azot, fosfor, potasyum) içeren gübreler, makro besin ihtiyacını karşılamak amacıyla yaygın olarak kullanılmakta ve bu elementlerin yetersizliği ise bitki büyümesini ve verimliliğini önemli ölçüde kısıtlamaktadır [Abebe vd., 2022]. Azot, bitkilerin klorofil biyosentezi, fotosentez, amino asit ve protein sentezi gibi kritik metabolik süreçlerde merkezi bir rol oynayan, büyüme ve verimlilik açısından zorunlu bir besin elementi olup, eksikliğinde ise özellikle verimde kayıplar, büyümede duraklamalar ve kalitede düşüşler meydana gelebilmektedir [Huang vd., 2021]. Fosfor ise bitkilerde enerji üretiminde, hücre bölünmesinde, stres toleransında ve büyüme süreçlerinde kritik bir rol oynayarak hem verimliliği artıran hem de çevresel zorluklara karşı dayanıklılığı güçlendiren temel bir besin maddesi olarak ön planda yer almaktadır [Khan vd., 2023]. Bir diğer element Potasyum, temel bir besin maddesi olup hücre büyümesinde, su dengesini sağlamada, fotosentezi ve besin maddelerinin taşınmasını düzenleyerek bitkilerin genel sağlığını ve gelişiminin desteklenmesinde, ayrıca bitkilerin hastalıklara karşı direncini artırarak verim ve kaliteyi önemli ölçüde iyileştirmesine yardımcı olur [Xu vd., 2020].

Özellikle azot ve fosfor gübrelerinin tarımsal üretimde yaygın ve etkili olarak kullanılması ile, artan küresel nüfusun gıda talebini karşılamak üzere yüksek düzeyde verim artışı sağlamış olup, bu gelişmelerin 1960'larda gerçekleşen Yeşil Devrim'in en önemli teknolojik katkılarından biri olarak değerlendirilmektedir [Kumar vd., 2021]. Mineral gübrelerin uygulanması, hızlı bitki büyümesini teşvik edebilse de aşırı mineral gübre kullanımı dünya çapında toprak kalitesini düşürmektedir [Mazylyte vd., 2024]. Aşırı azotlu gübre kullanımı tarımsal üretim maliyetlerini artırmakta ve yüzey suyu ötrofikasyona, içme suyu nitrat kirliliğine ve toprak asitlenmesi gibi çevresel sorunlara yol açmaktadır [Wang vd., 2024; Gallart vd., 2021]. Öte yandan, P gübreleri tarım topraklarını kadmiyum ve uranyum ile kirliletmekte ve fosforik asit sentezinden kaynaklanan radyoaktif fosfojips birikerek insan ve hayvan sağlığını tehlikeye atmaktadır [Jahan vd., 2025].

Buna ilaveten Mineral fosforlu gübreler ayrıca ötrofikasyona, toprak verimliliği kaybına ve enerji yoğun üretimleri nedeniyle karbon emisyonlarına neden olabilir [Mazylyte vd., 2024]. Küresel olarak, azot girdileri fosfor ve potasyum girdilerinden daha hızlı ve katlanarak artmakta, çevresel bozulmaya ve bazı sağlık sorunlarına neden olmaktadır. Hassas ve rejeneratif tarım uygulamaları, biyoteknolojik yaklaşımlar ve 4R (Doğru Kaynak, Doğru Oran, Doğru Zaman ve Doğru Yer) ilkelerine dayalı düzenlemeler, artan nüfusun gıda ihtiyaçlarını karşılamak üzere sürdürülebilir üretim ve çevresel denge için gereklidir [Penuelas vd., 2023].

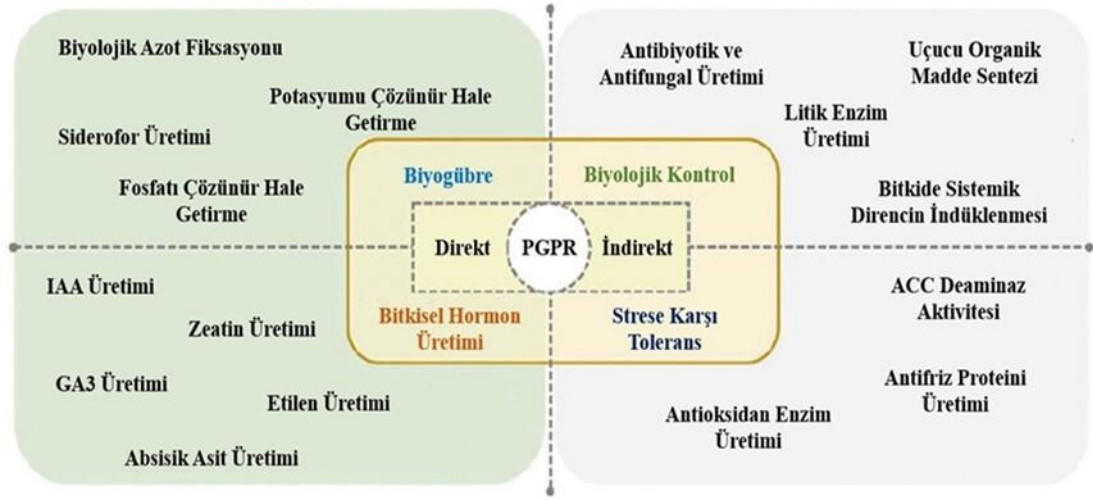
2.3. Mikrobiyal Gübre Uygulamaları ve Tarımsal Performansları

Toprak, bitki gelişimini destekleyen mikroorganizma etkileşimlerinin yoğun olduğu dinamik bir ekosisteme sahip olup yaklaşık 10 milyar mikroorganizma barındırır [Ganesh vd., 2024]. Biyogübreler, bitki rizosferindeki besin maddelerinin yoğunluğunu, erişilebilirliğini ve çözünürlüğünü artırarak bitki gelişimini destekleyen, bitkilere toprak aracılığıyla uygulanan mikrobiyal formülasyonlar olup bu süreçte bitki gelişimini teşvik eden PGPR'lar önemli bir rol oynamaktadır [Aloo vd., 2022]. Etkinlikleri ise; toprakta madde döngülerini yöneterek bitki büyümesini desteklemesine, besinlerin mineralizasyona yardımcı olmasına ve böylelikle toprak yapısını iyileştirmesine ve de bitkileri patojenlere karşı korumalarına yardımcı olurlar [Zhang vd., 2023; Wei vd., 2024]. Biyogübrelerin ve mikrobiyal biyostimülatörlerin kullanılmasında, dış girdileri azaltmaya, iç kaynakların niceliğini ve kalitesini iyileştirme yardımcı olduklarından çevresel olarak kabul edilebilir bir uygulama olarak değerlendirilir [Delfim vd., 2018]. Örnek vermek gerekirse, piyasada bitki büyümesini ve toprak verimliliğini artırmak için kullanılan rizobiyal, Azotobacter ve fosfor çözünürleştiren bakteriyel biyogübreler, azot fiksasyonu, büyüme teşvik edici maddeler üretimi ve hastalıkların biyolojik kontrolü gibi faydalar sağlarken, verimi %10–35 oranında artırabildiği bildirilmiştir [Thomas ve Singh, 2019].

2.3.1. Mikrobiyal Gübre içeriğinde bulunan Bitki Büyümesini Teşvik edici Rizobakteriler [Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)]

2.3.1.1. PGPR'ların Bitki Gelişimine Sağladığı Etki Yolları

Toprak, karasal ekosistemlerde en zengin mikrobiyal çeşitliliğe sahip olup, bir gramında bitki büyümesi ve gelişiminde önemli rol oynamaktadır [Ganesh vd., 2024]. Kimyasal ve fiziksel özelliklerinin yanı sıra sıcaklık, pH, besin, nem gibi faktörlerle toprak, mikrobiyal gelişimin için önemli bir parçası olup, derinliklere gidildikçe mikrobiyal yoğunluğun azalmasından dolayı PGPR'lar rizosfer ve kök yüzeyinde yoğunlaşırlar [Figiel vd., 2025]. Bitkiler, kök eksüdatları olarak bilinen yüksek veya düşük moleküler ağırlıklı organik bileşikler salgılayarak seçici bakterilerin kök bölgesinde kolonize olmalarını ve etkileşimlere aracılık ederler [Ganesh vd., 2024]. Salgılanan bu eksüdatlar organik asitler, şekerler, amino asitler ve benzeri bileşenler olup, bu bileşikler metabolize edebilen ve rizosferde yaşayabilen mikrobiyal toplulukları kendilerine çekerek etkileşim meydana getirirler. PGPR'lar, fitohormon üretimi ve besin çözünürlüğü gibi doğrudan, patojen baskılama ve stres toleransı gibi dolaylı mekanizmalarla bitki gelişimini destekler (Şekil 2.1), [Khosro vd., 2024]. PGPR'lara örnek olarak; *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Clostridium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Frankia*, *Microcoleus*, *Phyllobacterium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Vibrio* genusları örnek olarak verilebilir [Figiel vd., 2025]. PGPR suşlarının etkin ve ideal biyogübre olarak kullanılabilmesi için, güçlü ve kalıcı rizosfer yerleşimi sağlaması, çeşitli çevresel koşullarda güvenilir performans göstermesi, yerli mikroorganizmalarla başarılı rekabet etmesi, bitki vitamin ve mineral erişilebilirliğini artırması, çevre açısından sürdürülebilir tarım yöntemleriyle uyumlu olması ve insan ile çevrenin sağlığı için güvenliğinin olması gerekmektedir [Zuluaga vd., 2024]. Bu özellikler ile PGPR'lar, kimyasal gübre ve pestisit kullanımını azaltma potansiyeli sayesinde, tarımsal ekosistemlerin sürdürülebilirliğini artıran önemli bir toprak ve bitki düzenleyicisi olarak dünya genelinde yaygın şekilde kullanılmaktadır [Figiel vd., 2025].



Şekil 2.1: Bitki Gelişimini Teşvik edici Rizobakterilerin Etki Yolları: Doğrudan (Direkt) ve Dolaylı (İndirekt) Mekanizmalar [Figueiredo vd.,2016].

2.3.1.1.1. Azot Fiksasyonu

Bitkilerin makro besin elementlerinden biri olan N, bitkilerin kuru ağırlık içeriklerinde Karbon ve oksijenden sonra üçüncü sırada yer almaktadır [Wang vd., 2024]. Proteinlerin yapı taşı olan N, canlıların büyümesi ve gelişmesi için gerekli bir besin maddesidir [Abebe vd., 2022]. Yer kabuğunda %0.1, atmosferde ise yaklaşık %78 oranında bulunan azot, bitkiler tarafından azotlu gübrelerle amonyak (NH_3), nitrat (NO_3^-) ve nitrit (NO_2^-) formunda alınabildiği için gıda üretiminde %50'sinden fazlasında kullanıldığı bu üç bileşenin kritik olmasından dolayı azot tedariki, Haber-Bosch prosesi ile atmosferdeki azotun endüstriyel olarak amonyağa dönüştürülüp üre halinde yapılmaktadır [Abebe vd., 2022]. Protein, nükleik asitler, fosfolipitler, klorofil, hormonların, vitaminlerin ve alkaloidlerin birincil bileşeni olan N ve bitki büyümesinin ve gelişiminin tüm aşamalarında yer alır aynı zamanda mahsüllerde ilk eksik kalan elementlerden biri olan N'un bitkinin büyüme ve verimliliği için belirleyici bir unsurdur [Mahbub vd., 2023; Wang vd., 2024]. Bitkilerin ihtiyaçları karşılanmadığında ise düşük N stresi oluşmakta ve bu durumla baş edebilmek için kendi proteinlerini parçalayarak N'u yeniden kullanarak sağlamaları durumunda bitkide fotosentez miktarının düşmesine, yaprak yaşlanmasına, ve biyokütle artışında yavaşlamalara neden olabilmektedir [Wang vd., 2024].

Böyle durumlarda verim artışını sağlamak amacıyla fazla N gübrelemesi yapıldığında ise bitkinin alabileceği miktar %30-50 olduğundan, bu durum bitkide düşük N kullanım etkinliğine neden olur [Gallart vd., 2021; Wang vd., 2024]. Öte yandan N'nin aşırı uygulanmasında ise bitki büyümesi üzerinde olumsuz etkilere neden olduğundan N'un büyüme ve gelişiminin verimli bir şekilde sağlanması için yeterli miktarlarda N gübrelemesi yapılması önerilmektedir [Mahbub vd., 2023]. Bu çerçevede geleneksel olan N bazlı yapılan gübrelemelerde %50'sinin kayıpların meydana geldiğinden toprağın asitlenmesine, yeraltı ve yüzey sularında nitrat sızıntılarına sebep olarak çevre sorunlarına yol açtığından, tarımsal ekosistemlerin sürdürülebilirliğini sağlamak gereklidir [Aasfar vd., 2021]. Bu durumda gübreleme girdilerini azaltmak için; *Azoarcus* sp., *Azotobacter* sp., *Gluconoacetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Azospirillum* sp., *Herbaspirillum* sp. ve *Paraburkholderia* sp. gibi serbest yaşayan N-sabitleyici bakterileri içeren PGPR bazlı bir formülasyonlar geliştirilmektedir [Gallart vd., 2021].

2.3.1.1.2. İnorganik Fosfat Çözünürlüğü

Fosfor, nükleik asitlerin, hücre zarlarının ve enzimlerin önemli bir bileşeni olup, fotosentezde karbonhidratların kullanımı ve enerji üretimi gibi birçok biyolojik faaliyette hayati öneme sahiptir. Bitkilerde ise elliden fazla enzimin aktivatörü olarak görev yapar ve çevresel stres faktörlerine karşı dayanıklılığın artırılmasında esastır [Khan vd., 2023; Kumar vd., 2024]. Ayrıca büyüme ve verim artışında önemli etkiler oluşturabilmesi için fosforun, büyüme süreçlerinin erken aşamalarında eklenmesi gerekmektedir [Mazylyte vd., 2024].

Fosfor, bitkiler için kritik öneme sahip bir element olup, sınırlı bulunan fosfat kayaçlarından temin edilmektedir [Abebe vd., 2022]. Topraktaki fosfor konsantrasyonu (10 μ M), bitki dokusundaki fosfor seviyelerine (5-20 mM) oranla daha düşük ve topraktaki fosforun hareketliliği sınırlı olmasından dolayı fosfor eksikliği yaşanabilmekte, bu durumdan ötürü kimyasal gübre kullanımını zorunlu kılmaktadır [Damo vd., 2024]. Fosfor bazlı gübre ihtiyacının yaklaşık %50-60'ı mineral gübre ile karşılanmaktadır [Abebe vd., 2022].

Eklenen gübredeki fosfat, toprağın pH seviyesine bağlı olarak farklı tepkimelere girer; pH < 5.5 olan asidik topraklarda fosfat, demir (FePO_4) ve alüminyum (AlPO_4) ile birleşerek bitkinin kullanamayacağı bir forma dönüşürken, pH 7.5-8.5 arası alkali topraklarda ise fosfat, kalsiyum ile ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) etkileşime girerek biyoyararlanabilirliğini azaltır. Bu nedenle, bitkilerin fosfor alımının engellenmesine yol açarak diğer besin elementlerinin de alımını olumsuz etkileyerek verim kayıplara neden olur [Jahan vd., 2025]. Dolayısıyla yeterli fosfor kaynaklarının sağlanması, gelecekteki gıda güvenliğini garanti altına almak için temel bir unsur olacaktır [Abebe vd., 2022]. Bu doğrultuda şu öneri getirilebilir; fosfat çözme yeteneğine sahip mikroorganizmalar ile fosforun biyoyararlanabilirliğini artırma ile bitkilerdeki fosfor eksikliğinin giderilmesine yönelik alternatif bir çözüm sunulabilir [Qingwei vd., 2025]. Bu doğrultuda, Fosfat çözücü mikroorganizmalar, hem topraktaki zor çözünebilen fosfatları çözerek hem de bitkilerle etkileşimde bulunarak daha fazla biyoyararlanabilir fosfor sağlayabilmektedirler [Delfim vd., 2018]. Bu bağlamda söz konusu Fosfat çözücü mikroorganizmalar toprakta bulunan fosfat türlerine bağlı olarak iki farklı mekanizma ile fosforun biyoyararlanabilirliğini artırabilmekte olup; ilki; inorganik fosfat çözünürlüğünü organik asitlerin salgılayarak bunun neticesinde pH'ın düşürülmesi, ikincisinde ise; organik fosfat çözünürlüğünü fosfataz, karbon fosfor liyaz ve fitaz gibi enzimlerin katalitik aktiviteleriyle sağlayabilmektedir [Qingwei vd., 2023]. Fosfat çözme yeteneğine sahip mikroorganizmalar, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Mesorhizobium* ve *Sinorhizobium* gibi türler, fosforu bitkiler için biyoyararlanabilir forma dönüştürerek, topraktaki çözülebilir fosfat seviyelerini artırmaktadır [Rosas vd., 2006].

2.3.1.1.3. Siderofor Üretimi

Demir (Fe), yer kabuğunda en bol bulunan mikro besin elementi olup, dördüncü en bol element olarak dikkat çekmektedir; ancak, topraklardaki toplam Fe konsantrasyonu genellikle bitkilerin ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde olsa da, çeşitli toprak özellikleri Fe'nin çoğunu hareketsiz hale getirdiğinden, dünya genelindeki toprakların yaklaşık %30'unda düşük miktarlarda Fe bulunabilmektedir [Denton vd.,

2022]. Toprakları katı mineral bileşiminin %4–5 'ini oluşturmaya rağmen, demir genellikle düşük çözünürlükte bulunur ve yarı kurak, kireçli topraklarda bulunan nötr ile alkali pH seviyeleri, demirin biyoyararlanabilirliğini daha da kısıtlar. Bitkilerin optimal büyüme için 10^{-9} – 10^{-4} M arasında demir konsantrasyonuna ihtiyaç duyduğu bilinmekle birlikte, iyi havalandırılan ve fizyolojik pH seviyelerine sahip topraklarda serbest Fe^{+3} ve Fe^{+2} iyonlarının konsantrasyonu 10^{-15} M'nin altına düşmekte, bu da bitkilerin gereksinim duyduğu seviyeden en az altı kat daha düşük olduğu bildirilmektedir. Demir (Fe), bitkiler için hayati öneme sahip olan bir mikro besin elementi olup, özellikle solunum ve fotosentezdeki elektron transfer reaksiyonlarında kritik bir rol oynamaktadır. Bitki büyümesini en fazla sınırlayan üç temel besin maddesinden biri olmasına rağmen, azot ve fosfor gibi diğer sınırlayıcı besinlere kıyasla demir eksikliğinin gübreleme yoluyla giderilmesi daha zordur, çünkü gübre ile eklenen demir hızla çözünmeyen demir hidroksit formlarına dönüşerek biyoyararlılığını kaybetmektedir **[Crichton, 2016]**. Topraktaki demir, aerobik ortamlarda çözünmeyen hidroksitler ve oksihidroksitler gibi farklı formlar oluşturabilir ve dolayısıyla bitki emiliminde kullanılamaz duruma getirir. Bununla birlikte, rizosferik bakteriler kompleks demire karşı yüksek afiniteye sahip düşük moleküler ağırlıklı demir şelatlayıcıları olan sideroforlar salgılar **[Andrade vd., 2023]**. Bakteriyel sideroforlar, katyon şelatlama özellikleri gösteren ve besin eksikliğinde beslenme bozukluğuyla başa çıkmak veya ağır metalin toksisite seviyesini hafifletmek için sentezlenen düşük molekül ağırlıklı organik bileşiklerdir **[Alzate Zuluaga vd., 2024]**. *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Serratia* ve *Rhizobium* dahil olmak üzere çeşitli PGPR türleri, hücre dışı veya hücre içi olabilen, suda çözünür, demir sınırlayıcı koşullar altında minerallerden veya organik moleküllerden demiri çözebilen, ağır metaller ve radyoaktif parçacıklarla kararlı kompleksler oluşturabilen sideroforlar üretir ayrıca Siderofor üreten bu PGPR türleri, kirlenmiş topraklarda bitki büyümesini artırmak ve ağır metal toksisitesini azaltmak için faydalıdır **[de Andrade vd., 2023]**.

2.3.1.1.4. İndol Asetik Asit Üretimi

Fitohormonlar arasında tanımlanan ilk bileşik, Indol-3-asetik asit (IAA) olarak bilinen oksindir [Timoveva vd., 2024]. Doymamış aromatik halka ve asetik asit yan zincirlerinden oluşan endojen bir hormon olan Oksin, Darwin tarafından ilk olarak koleoptil deneylerinde incelenmiştir [Gao vd., 2024]. Bitki büyümesi ve gelişimini düzenleme özelliği ile, çeşitli fizyolojik süreçlerin işleyişi üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır [Timoveva vd., 2024]. Bitkiler Oksini iki yoldan üretirler, Triptofan bağımlı ve bağımsız olmak üzere, ancak daha çok bağımsız yolu tercih ederler [Gao vd., 2024]. Oksinler aynı zamanda mikroorganizmalar için sinyal molekülleri olarak görev yaparak, mikrobiyal-bitki etkileşimlerinde kritik bir rol oynar [Timoveva vd., 2024]. IAA, özellikle rizosferde üretilerek kök uzamasına, kök kılı oluşumuna ve yanal kök gelişimini destekleyerek bitkilerin su ve besin maddelerini daha verimli bir şekilde emmesine yardımcı olur ve aynı zamanda yerçekimi ve ışık gibi çevresel faktörlere verilen yanıtları düzenleyerek bitkilerin çevresel koşullara adaptasyonunu kolaylaştırır [Yang vd., 2024; Gao vd., 2024]. Bununla birlikte bitki gelişimi üzerinde geniş bir etki alanına sahip olan IAA, embriyo gelişimi, fototropizma, jeotropizma, apikal baskınlık, yaprak oluşumu ve absisyondan sorumludur ve aynı zamanda bakteriyel IAA, bitkilerin kuraklık, tuzluluk ve ağır metal toksisitesi gibi abiyotik streslere karşı dirençlerini arttırdığı gibi , IAA üreten PGPR 'lar, fosfat çözünürlükleri, siderofor üretimi, azot fiksasyonu, proteaz ve katalaz üretimi gibi besin alımını iyileştiren özelliklere sahiptir [Ganesh vd., 2024]. Yüksek bitkilerden izole edilen bakterilerin %80'inin IAA sentezleme kapasitesine sahip olduğu, bu bakteriler sırasıyla *Acetobacter*, *Acinetobacter*, *Herbaspirillum*, *Azospirillum*, *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Mesorhizobium*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces* ve *Rouxsiella* gibi çeşitli bitki büyümesini teşvik edici bakteriler olup, IAA üretimi yoluyla bitki gelişimini desteklenmesinde, çevresel streslere karşı direncin artmasında ve genel bitki sağlığının iyileşmesinde önemli katkılar sağlamaktadır [Timoveva vd., 2024].

2.3.1.1.5. Biyofilm Üretimi

Biyofilmler, 10^8 - 10^{11} hücre g^{-1} ıslak ağırlık bazında değişen yüksek hücre yoğunluğuna sahip olup kendileri tarafından üretilen hücre dışı polimerik madde (EPS) matrisi içinde yaşayan düzenli ve düzenlenmiş bir mikroorganizma grubudur ve canlı veya cansız yüzeylerde birbirlerine yapışırlar ve planktonik formlarıyla karşılaştırıldığında büyüme hızı ve gen ifadesi açısından farklılıklar gösterir [Rafique vd., 2024]. Bağlanma aşamasında oluşan ekzopolisakkaritlerin içeriğinde proteinler, ekstraselüler DNA, nükleik asit, enzim, lipitler, membran vezikülleri ve bakteriyel refrakter bileşikleri bulunmaktadır [Pandit vd., 2020].

Biyofilm oluşum aşamasında ilk koşul kolonizasyon için hücrenin yüzeye yapışmasıdır [Ajijah vd., 2023]. Sürecin aşamaları ise şu şekildedir; Bağlanma, hücreler arası bağlanma, desorpsiyon, biyofilm olgunlaşması ve biyofilm dispersiyonu olarak sıralanabilir [Pandit vd., 2020]. Biyofilm oluşturan PGPR'lar, rizosferde sağlam mikrobiyal topluluklar kurarak bitkilerin stres koşullarına karşı korunmasını sağlar ve toprak verimliliğini artırır [Rafique vd., 2024]. Bu biyofilmler, besin döngüsünü destekleyerek patojenlerle rekabet eder ve bitki sağlığını olumlu yönde etkiler [Ajijah vd., 2023]. Ayrıca, biyogübre kaynaklı biyofilmler su tutma kapasitesini artırıp abiyotik streslere karşı dayanıklılığı geliştirirken, organik kirleticilerin ve ağır metallerin parçalanmasını hızlandırarak toprak sağlığını iyileştirir [Pandit vd., 2020]. Ek olarak PGPR'ların hızlı kolonizasyonu ve savunma mekanizmaları ile bitkilerin fitopatojenlere karşı direncini güçlendirmelerine yardımcı olurlar [Ajijah vd., 2023].

2.3.1.1.6. Amonyum Üretimi

Bitki büyümesine yardımcı olan birincil süreçlerden biri, PGPR tarafından üretilen amonyak olup, konakçı bitkilere azot sağlayarak, köklerin, sürgünlerin ve biyokütlenin artışına katkı sağlamaktadır [Bhattacharyya vd., 2020]. Amonyak üreten PGPR'lar yalnızca bitki büyümesini teşvik etmekle kalmayıp aynı zamanda patojenleri baskılayarak bitki sağlığını da desteklediğinden, amonyak üretimi topraktaki azot döngüsünün önemli bir bileşeni olup, bitkilerin doğrudan

kullanabileceği reaktif bir azot formu sağladığından tarımsal üretkenlik ve sürdürülebilirlik için çok önemlidir [Abdelwahed vd., 2021].

2.3.1.1.7. Hidrojen Siyanür (HCN) Üretimi

Bakteriler ve diğer organizmalar arasındaki kimyasal etkileşimlerde uçucu bileşiklerin sinyal iletilici moleküller olarak işlev görebileceği yönündeki kanıtlar, son yirmi yılda mikrobiyal ekoloji ve kimyasal biyoloji alanlarında artan bir araştırma ilgisine konu olmuş olan HCN, biyotik etkileşimlerde rol oynayan ilk uçucu bileşiklerden biri olan ve sitokrom C oksidaz enzimiyle güçlü ve de özgül bir bağ kurarak enzimin kalıcı olarak inaktive olmasına neden olur [Anand vd., 2023]. Ayrıca HCN, demir içeren diğer metaloenzimlerin aktivitesini de inhibe ederek solunum zincirinin kapsamlı bir şekilde baskılanmasına yol açmaktadır [Letoffe vd., 2022]. HCN, çeşitli rizobakteri türleri tarafından üretilmekte olup, patojenlerin biyolojik kontrolünde işlev gördüğü bilinmektedir [Gupta vd., 2020]. Proteobakteriler ve siyanobakterilerden oluşan küçük bir taksonomik grupta, HCN üretimi belirlenmiş olup, araştırmalarda çoğunlukla glisin dekarboksilasyonu yoluyla HCN üreten *Pseudomonas* türlerine odaklanılmaktadır [Letoffe vd., 2022; Anand vd., 2023].

2.3.1.1.8. Çinko Çözünürlüğü

Çinko (Zn), toprak verimliliği ve bitki beslenmesi açısından kritik bir mikro element olup, bitkiler tarafından genellikle 30–100 mg/kg kuru madde düzeyinde alınır [Jalal-Ud-Din vd., 2024]. Bu konsantrasyon aralığı, çinkonun enzimatik aktivite, protein sentezi ve hormon üretimi gibi temel fizyolojik işlevlerde görev almasını sağlar ve triptofan sentaz enziminin kofaktörü olarak, bitkilerde IAA üretim sürecinde kritik bir işlev görür [Jalal vd., 2023; Jalal-Ud-Din vd., 2024]. Bu elementin toprağın pH (5.5–7.0), organik maddenin durumu, toprak tipi, nem durumu ve diğer besin elementleriyle olan etkileşimleri (Fosfor, demir ve mangan) gibi birçok faktörler bulunabilirliğini etkileyebilmektedir [Al Jabri vd., 2022]. Toprağın hafif asidik pH (5.5–7.0) durumunda çinkonun çözünürlüğü artarken, içeriğindeki organik maddenin çinkoyu çözünür formlara dönüştürmesine yol açarak bu yolla alımını kolaylaştırmasına, tekstür yapısının ise çinkonun bulunabilirliği ve taşınmasında etkin bir rol oynadığı,

killi toprakların ise çinkoyu daha iyi tutabildiği, kumlu topraklarda ise sızma yoluyla kayıplara neden olması ve de ayrıca Fosfor, demir ve mangan gibi elementlerle olan etkileşimlerle çinko alımında olumsuz etkilere neden olması, toprak neminin de hem çinkonun hareketliliğini hem de bitkiler tarafından erişilebilirliğini etkileyebileceği bakımından çeşitli etkileri olabilmektedir [Sethi vd., 2025]. Böyle bir durumda çinko çözünmeyen çinko karbonat formuna dönüşmesi nedeniyle kireçli ve sodalı topraklarda yetişen bitkilerde belirgin şekilde etkileri görülebilmektedir [Sirohi vd., 2025]. Toprakta yüksek düzeyde birikmesi durumunda (>300 mg/kg), çinko toksisitesi ile bitki gelişimini olumsuz etkileyebilirken, eksik olması durumunda ise, buğday ve arpa gibi tahıllarda büyüme ve dane veriminde önemli düşüşlere, ve de Zn içeriğini azaltarak ürünlerin besin kalitesinin azalmalarına neden olmakta olup, çinko eksikliğinin giderilmesinde üç farklı aşama 1) çinko gübrelemesi, 2) organik madde yönetimi ve 3) çinko çözücü bakterilerin (ZSB) ile gidermek mümkün olabilmektedir [Jalal-Ud-Din vd., 2024; Sethi vd., 2025]. Çinko çözücü bakteriler ile, çözünmeyen çinko bileşiklerini bitkiler tarafından alınabilir formlara dönüştürerek, besin maddelerinin kademeli olarak serbest kalmasını sağlarken, aynı zamanda toprak mikroflorasını koruyarak uzun vadede toprak yapısının dengelenmesine yardımcı, kimyasal gübrelere çevre dostu ve sürdürülebilir bir alternatif çözüm sunmaktadır [Jalal-Ud-Din vd., 2024]. Bu bakteriler, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium* ve *Acinetobacter* olarak sıralanabilirler. Etki mekanizmaları ise, arasında bazıları organik asit (Sitrik asit, glukonik asit) ile çinko ile çözünür bileşikler meydana getirirken, bazıları ise çinko iyonlarının çökmemesi için ürettikleri organik asitler ile çinko iyonlarının şelasyonu ile meydana gelmektedir [Sethi vd., 2025].

2.4. Buğday Bitkisi

Buğday, insan uygarlığı için temel bir öneme sahip olup, küresel dünyada beslenme ve gıda güvenliğini artırmada önemli bir rol oynamıştır [Deyalage vd., 2024]. Bereketli Hilal (Irak, İran, İsrail, Ürdün, Lübnan, Filistin, Suriye ve Türkiye) 'in doğusunda bulunan Levant'ta yetiştirilmeye başlanması ve dolayısıyla kolay taşınması, saklanması ve verimlilikleri nedeniyle evcilleştirilen buğday, insan eliyle gerçekleşen adaptasyon ve türleşmelerin yanı sıra, çiftçilerin göçleriyle farklı çevresel koşullara maruz kalarak evrimsel değişim geçirmiş ve bu süreç sonunda bölgelere özgü yerel buğday popülasyonlar ortaya çıkmasına neden olmuştur [Feldman ve Levy, 2023]. En eski evcilleştirilmiş tarım ürünlerinden biri olan buğday, avcılık ve toplayıcılıkla geçen bir yaşam tarzından tarıma dayalı bir hayata geçilmesine neden olarak etkili bir dönüm noktası olmuştur [Deyalage vd., 2024]. Einkorn Buğdayın, evcilleştirilerek yerleşik düzene geçilerek yetiştirildiği dönem 'Neolitik Dönem' olduğu bildirilmektedir [Adhikari vd., 2022].

Buğday, endosperm yapısı, kabuk rengi, sertlik, hamur kalitesi ve ekim zamanına göre çeşitli alt sınıflara ayrılmaktadır [Khalid vd., 2023].

Kırmızı ve beyaz buğday; ABD verilerine göre, kırmızı ve beyaz buğdayın besin bileşimlerinde, mikro besinlerde (Beyaz buğdayda demir, çinko, fosfor ve potasyum, Kırmızı buğdayda ise bakır, magnezyum ve niasin biraz daha yüksek olmak üzere) küçük farklar dışında büyük ölçüde benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir ayrıca kırmızı buğday rengi, hasat öncesi meydana gelebilen çimlenme durumlarına karşı beyaz buğday rengine göre daha dirençli olduğu geniş çapta kabul edilmektedir [Yücel vd., 2011; Grafenauer vd., 2020].

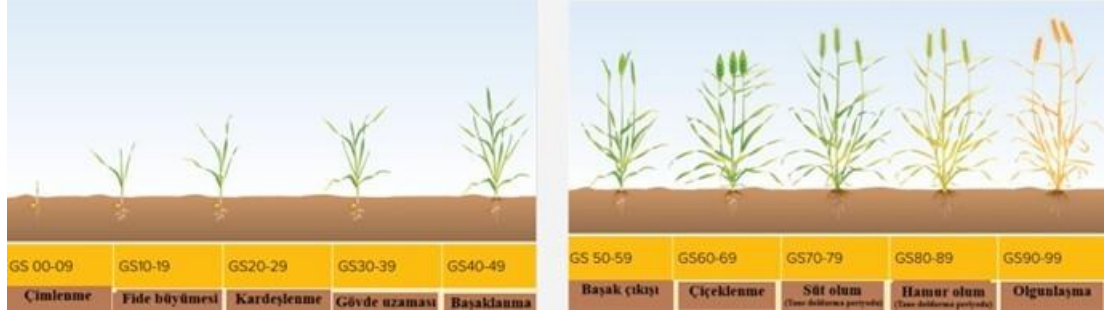
Yumuşak ve Sert buğday; Dane sertliği, buğdayın genetik bir özelliği olup, nişasta granülleri ile protein matrisi arasındaki yapışmayı engelleyen ve yumuşak buğdayda daha yüksek seviyelerde bulunan friabilinlerin varlığının olması, sert buğdaylarda ise bu proteinlerin yokluğu ile ilişkilendirilmektedir [Shevkani vd., 2024].

Hamur mukavemeti; Buğdayda bulunan gluten, karmaşık bir protein bileşimi olarak hamurun viskoelastik özelliklerini ve ekmek kalitesini belirlemede kritik bir rol oynayan Gluten proteinleri, başlıca gliadinler ve gluteninler olmak üzere iki ana kısma

ayrılırlar; gliadinler hamurun uzama kapasitesini ve viskozitesini etkilerken, gluteninler hamurun elastikiyetini ve mukavemetini sağlayarak yapısal bütünlüğünü güçlendirir [Pourmohammadi vd., 2023].

Kışlık ve yazlık buğdaylar; Normal gelişim ve üreme süreçlerinin gerçekleşebilmesi için farklı soğuklama (vernalizasyon) isteklerine göre birbirinden ayrılırlar [Khalid vd., 2023]. Kışlık buğdayda, üreme olgunluğu için vernalizasyona ihtiyaç duyduğu süreçte vrn-1 geni aktive olurken, ilkbahar buğdayında ise soğuk işleme olmaksızın bu gen baskın bir ifade sergiler [Schoen vd., 2022]. Mevcut vernalizasyon prosedürü ise, kısa bir gün uzunluğu ile 2 - 6°C'de 6 - 10 hafta sürebilmektedir [Cha vd., 2022]. Düşük sıcaklıkta vernalizasyon, kış buğdayının vejetatif aşamadan generatif aşamaya geçişi için gereklidir ve don hasarını azaltmak için bir adaptasyon görevi görür [Liu vd., 2025].

Buğdayın büyüme ve gelişimi, belirli biyolojik ve fizyolojik süreçler doğrultusunda, çeşitli evrelerde farklı aşamaları içeren kompleks bir gelişim sürecini izler (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Zadoks Büyüme Skalası Gelişim Aşamaları [Web 2, 2025].

Zadoks büyüme skalası, buğdayın gelişim süreçlerini sayısal bir sistemle tanımlayarak her evreyi belirli bir aralıkla ifade eder. Bu sistemde, Çimlenme (00-19) evresinde tohumlar çimlenir ve kökler ile koleoptil oluşumu başlar. Fide (10-19) evresinde, bitki ilk üç yaprağını geliştirir. Kardeşlenme (20-29) aşamasında, yan sürgünler (kardeşler) gelişmeye başlar ve 4.Yaprak görünür. Sapa kalkma (30-39) döneminde, bitkinin yaprak kını dikleşir ve sap oluşumu başlar; bu aşama, aynı zamanda boğumların ve boğum aralarının belirginleştiği dönemdir. Gebecik (40-49) evresinde, bayrak yaprağının kını uzar ve başak kınına doğru şişlikler meydana gelir; bu aşama, kılçıklı çeşitlerde kılçığın ucunun görüldüğü dönemdir. Başaklanma (50-59) aşamasında, başak ucu bayrak yaprağının kınından çıkar ve başak tamamen kınından özgürleşir.

Çiçeklenme (60-69) evresinde, başak ortasında ilk anterler gözlemlenir ve başak boyunca anter çıkışı devam eder. Süt olum (70-79) evresinde, danenin şekilsel olarak gelişmeye başlaması ve içerideki proteinlerin birikimi gözlemlenir. Hamur olum (80-89) aşamasında, dane içi önce yumuşak, gevşek hamur kıvamına gelir, sonra ise katılaşarak yoğun hamur kıvamına ulaşır. Son olarak, fizyolojik olum (90-99) evresinde, danede su kaybı gerçekleşir ve olgunlaşma tamamlanır [Zadoks vd., 1974].

2.4.1. Eminbey (*Triticum durum* Desf.) Makarnalık Buğday Çeşidinin Karakteristikleri

Dünyada tahıl üretiminde 10. Sırada yer alan Durum buğdayı, buğday türleri arasında ekmeklik buğdaydan sonra en fazla yetiştirilen türdür [Grosse-Heilman vd., 2024]. 28 kromozoma ($2n = 4x = 28$) ve AABB genom yapısına sahip tetraploid bir Poaceae familyası üyesidir [Tefera H., 2022]. Makarna, kuskus, bulgur, ırmık üretiminde kullanılan durum buğdayı sertliği, yüksek protein içeriği ve gluten özelliklerinden dolayı yaygın olarak makarna ve makarna ürünlerinde çoğunlukla tercih edilmektedir [Alemu H., 2017]. Aynı zamanda buğday, dane ağırlığının yaklaşık %18'ine ulaşabilen protein içeriği ile lif, karbonhidrat, çinko ve yağlar açısından da zengin bir besin kaynağıdır; bu yönüyle, özellikle yoksullukla mücadele eden toplumlarda temel besin ihtiyaçlarının karşılanmasında kritik bir rol oynamaktadır [Grosse-Heilman vd., 2024]. Durum buğdayı (*Triticum durum*) yetiştiriciliği, dünya genelindeki toplam buğday üretiminin yaklaşık %5'ini oluşturmaktadır ve özellikle gündüzleri sıcak, geceleri serin geçen kurak iklim koşullarında başarılı bir şekilde yetiştirilmekte olup başta Avrupa Birliği olmak üzere Kanada, Amerika Birleşik Devletleri, Meksika, Avustralya, Türkiye ve bazı diğerleri dünya durum buğdayı üretiminde öne çıkan başlıca üretici ülkelerdir [Dimitros, 2024]. Türkiye'de buğday, tahıl ekim alanlarının büyük bölümünü oluşturmalarına rağmen, durum buğdayı üretimi iç tüketimi karşılayamadığından yıllık bazda ithalatla desteklenmektedir [Cevher ve Altunkaynak, 2020]. Öte yandan, sıcaklık ve kuraklığa duyarlı olan durum buğdaylarının verimini olumsuz etkileyen başlıca faktörlerden biri de iklim değişiklikleridir [Grosse-Heilmann vd., 2024]. 2009 yılında Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından tescil edilen Eminbey makarnalık buğday çeşidi, kılçıklı, beyaz başaklı, orta boylu ve sağlam sap yapısına sahip olup, kışlık gelişme

özelliği gösterirken, soğuğa ve yatmaya karşı yüksek tolerans sergilemekte, iyi kardeşlenme ve orta erken olgunlaşma özelliklerine sahip, uygun azotlu gübrelemeye olumlu yanıt veren ve dane dökme direnci yüksek bir genotip olarak; 300-750 kg/da arasında değişen verim potansiyeline, 38-42 g 1000 dane ağırlığı, 79-84 kg/hl hektolitre ağırlığı, %12.5-17.6 protein oranı, %85-100 camsılık, 10.5-12 renk indeksi, 30-46 SDS değerine sahip olup, protein kalitesi ve irmik rengi bakımından makarna endüstrisinin kalite standartlarını karşılamaktadır [Web 3, 2025].

2.5. Mikrobiyal gübrelerin Buğday Üzerinde Etkilerini İnceleyen Çalışmalar

Devi ve diğerleri (2024) ile yapmış oldukları çalışmada, Buğday (*Triticum aestivum*) bitkisinde, tek suşlu biyoinokulantlardan daha etkili olan mikrobiyal konsorsiyumların etkilerini araştırdıklarında izole ettikleri 214 adet bakteriyi fosfor, potasyum, çinko ve selenyum çözünürlüğü gibi mineral çözücü özellikleri bakımından test ettiklerinde Dört izolata *Rahnella aquatilis* EU-A3Rb1, *Erwinia aphidicola* EU-A2RNL1, *Brevibacillus brevis* EU-C3SK2 ve *Bacillus mycoides* EU-WRSe4 etkili olduğu, ve Bu izolatlar ile oluşturulan mikrobiyal konsorsiyumun, tek suşlu biyoinokulantlara kıyasla buğday bitkisinde büyüme ve fizyolojik parametreleri anlamlı şekilde iyileştirdiği, dağlık bölgelerde yetişen buğday ve diğer tahıllar için etkili bir biyogübre adayı olduğu belirtilmiştir.

Chandra ve diğerleri (2021) ile yapmış oldukları çalışmada 1-aminosiklopropan-1-karboksilik asit (ACC) deaminaz üreten bakteri suşları (DPB9 (*Ochrobactrum anthropi*), DPB13 (*Pseudomonas palleroniana*), DPB15 (*Pseudomonas fluorescens*) ve DPB16 (*Pseudomonas palleroniana*)) ile oluşturulan konsorsiyumun pirinç ve buğdayda bitki büyümesini, besin içeriğini ve verime olan etkilerini değerlendirdiklerinde özellikle makro besin (N, P, K, Ca, Na) içeriği ile 1000 dane ağırlığı, dane sayısı ve sürgün sayısını önemli ölçüde yükseldiği, dane ve saman verimini %26-74 oranında arttırdığı ve hasat indeksini iyileştirildiği rapor edilmiş olup, bu sonuçlar ile ACC deaminaz üreten bakteri konsorsiyumunun sürdürülebilir pirinç-buğday üretimi için etkili bir biyoinokulant olduğu öne sürülmüştür.

Tshering ve diğerleri (2022) ile yapmış oldukları çalışmada , polimer kaplı kaya mineral gübresi (mika, feldispat, yumuşak kaya fosfatı, dolomit, bazalt, granit ve

çeşitli sülfatlarla harmanlanmış kristalin silikadan oluşan, besin maddeleri içeren tescilli bir mineral karışımı) ve mikrobiyal inokulantın (*Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Trichoderma* ve *Rhizophagus irregularis* sporlarını içeren ticari bir formülasyon) buğdayda azot kullanım etkinliği, dane verimi ve protein konsantrasyonu üzerindeki etkilerini değerlendiklerinde polimer kaplı kaya mineral gübresi + mikrobiyal inokulant uygulaması, inorganik gübreyle kıyasla daha yüksek Azot kullanım verimliliğinde, dane protein içeriğinde ve verimde artışlar görüldüğü, bu artışların kök gelişimi ile sürgün ve dane azot içeriğini arttırdığı ve de bu uygulamanın buğday üretiminde verim ve kalite artışı sağladığı gibi azot kullanım verimliliğini artıran sürdürülebilir bir besin yönetim stratejisi olarak önerilmiştir.

Sherathia ve Jadeja'nın (2023) yılında yapmış oldukları çalışmada, buğday (*Triticum aestivum* L.) büyümesi ve ürün verimi üzerindeki etkilerini incelemek için, buğday rizosferinden izole edilen yerel bakteri türleri oluşturulan konsorsiyum hem de *Azotobacter chroococcum*'un ile birlikte aşılandığı mikrobiyal konsorsiyumlar oluşturularak etkilerini incelediklerinde *A.chroococcum* 'un konsorsiyuma eklenmesiyle veya konsorsiyumun tek başına kullanıldığı gruplarda, kontrol grubuna kıyasla buğdayın verimi ve kalite parametrelerinde önemli artışlar sağlandığını gösterdiği ayrıca *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter* sp. ve *Erwinia* sp. içeren konsorsiyumun, 60 gün sonra sürgün sayısı, sürgün boyu, kuru sürgün ağırlığı ve çiçek salkımı sayısında gibi parametrelerde anlamlı ilerlemeler görüldüğü ve de 1000 dane ağırlığı, başak başına dane sayısı, başak sayısı ve dane veriminde kayda değer artışlar görüldüğü rapor edilmiştir.

Jain ve diğerleri (2021), 2017–2019 yıllarında yapılan çalışmada yerel *Azotobacter* ve diğer yararlı bakterilerden oluşan mikrobiyal konsorsiyum (*Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter hormaechei*) ile inorganik gübrelerin buğdayın büyüme, verim ve ekonomik getirisi üzerindeki etkileri incelediklerinde biyogübrenin %100 önerilen gübre dozu birlikte uygulandığında, bitki gelişimi ve verim parametrelerinde anlamlı artışlar sağladıkları, en yüksek dane verimi (54.83 q/ha) ve ekonomik kazanç elde ettikleri bildirilmiştir.

Ibarra-Villarreal ve diğerkleri (2023) tarafından yapmış oldukları çalışmada , Yaqui Vadisi (Sonora, Meksika)'nde iki tarım sezonu boyunca yerli bir bakteriyel konsorsiyumun (*Bacillus subtilis* TSO9, *B. cabrialesii* subsp. *Tritici* TSO2^T, *B. subtilis* TSO22, *B. paralicheniformis* TRQ65, ve *Priestia megaterium* TRQ8) farklı azot dozları (0, 130, 250 kg N ha⁻¹) altında buğdayın gelişimi, verimi ve kalitesi üzerindeki etkisini değerklendirildiklerinde 130 kg N ha⁻¹ dozunda uygulanan bakteriyel konsorsiyumun başak uzunluğu, başak başına dane sayısı ve toplam verimi (+1.0 ton ha⁻¹) artırdığını, kalite parametrelerinde ise olumsuz bir etki oluşturmadiğı ve de bu yerli bakteriyel inokulantın azot gübre kullanımını azaltarak sürdürülebilir buğday üretimi için etkili bir biyoteknolojik araç olarak önemi vurgulanmıştır.

Wang ve diğerkleri (2020) ile yapmış oldukları çalışmada Kimyasal gübrelerin aşırı kullanımının çevreye zarar verdiğı göz önüne alınarak, bu çalışmada bitki büyümesini teşvik eden 39 izolat elde etmiş olup, bu izolatlar arasından, azot fiksasyonu, fosfat ve potasyum çözme ile IAA üretimi açısından etkili olanlar belirlenmiş, ve K14 + 176+ P9+ N8+ P5 bakterilerinden oluşan kombinasyon, topraktaki NPK miktarını artırıp kimyasal gübreyi %25 azaltıldığında buğday verimini olumsuz etkilemediğı sürdürülebilir tarıma katkı sağlayan etkili bir biyogübre adayı olabileceğı vurgulanmıştır.

Santos ve diğerkleri (2020) ile yapmış oldukları çalışmada, baklagillerden izole edilen rizobiyal simbiyont aşılarının, tek başına ve *Azospirillum brasilense* ile kullanıldığında BRS Parrudo ve TBIO Sossego olmak üzere iki farklı buğday çeşidi üzerine etkilerini incelediklerinde *Burkholderia* sp. ve *Mesorhizobium* sp. ile *A. brasilense*'in tek başına ve birlikte aşılama ile önerilen azot dozları (%100, %50) ile beraber uyguladıklarında her iki uygulamada da, önerilen azot dozunun yarısı kullanılsa dahi buğday dane veriminde artış sağlandığını gösterdiğı, bu tür bir aşılamaaların tarım sektörü için hem ekonomik hem de ekolojik açıdan sürdürülebilir ve uygulanabilir bir alternatif olduğunu ortaya koymaktadır.

Muhae-Ud-Din ve diğerkleri (2021) ile yapmış oldukları çalışmada sentetik gübre kullanımını azaltmak amacıyla *Bacillus* sp. MN54 ve *Trichoderma* sp. MN6 suşlarının tekli ve konsorsiyum halinde uygulandığı saksı denemelerinde mikrobiyal konsorsiyum uygulamasının, bayrak yaprağı alanı ve klorofil içeriğini arttırdığı, zar

geçirgenliği ve su kaybını azalttığı görölmüş olup, başakçık sayısı, dane sayısı ve dane veriminde %30'a varan artışlar tespit edildiğinden endofitik mikrobiyal konsorsiyumların kurak koşullarda buğdayın büyüme ve veriminde sürdürülebilir iyileşmeler sağlayabileceği bildirilmiştir.

Dal Cortivo ve diğeri (2020) ile yapmış oldukları çalışmada buğdayda kimyasal gübre kullanımını azaltmak amacıyla üç ticari biyogübre formölasyonu (bakteriyel ve mikorizal) kullanılmıştır. *Azospirillum* spp., *Azoarcus* spp. ve *Azorhizobium* spp. İçeren bakteriyel konsorsiyum ve iki mikorizal-bakteriyel konsorsiyum (*Rhizophagus irregularis* + *Azotobacter vinelandii* ve *R. irregularis* + *Bacillus megaterium* + *Frateuria aurantia*) bitki büyümesini ve azot birikimini arttırdığı, ancak verimde yalnızca %1-4 artış sağladığı, gluten içeriğinde etki etmezken, protein kalitesini iyileştirdiği ve enzim aktivitelerinde artışlar görüldüğü ancak mikrobiyal çeşitlilikte değışiklik olmadığı tespit edilmiş olup, oluşturulan biyogübrenin sürdürülebilir tarımda faydalı olabileceğini, ancak mikroorganizma konsorsiyumlarının dikkatle seçilmesi gerektiği rapor edilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Yer Alan Mikroorganizma Suşları

Kontrol suşları olarak kullanılan başlıca Mikroorganizmalar; *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Salmonella gallinarum* (Lab izolatu) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15692, *Escherichia coli* K12 ve *Bacillus cereus* DSM 431, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Klebsiella pneumoniae* (Lab izolatu) iken, Çalışmada yer alan TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129, TSR5B-131, TSR6B-135 kodlu izolatlar Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırlarında bulunan 6 farklı hububat ekim alanlarından izole edilen suşlar olarak yer alırken ve ayrıca Laboratuvarımızda bulunan alev ağacından izole edilen PGB_invit bakterisi, Gebze Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Mikrobiyota Laboratuvarı stoklarından temin edilmiştir.

3.1.2. Tohum

Çalışmamızda kullanılan Eminbey çeşidi Makarnalık Buğday (*Triticum durum* desf.) tohumları Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden (Ankara, Türkiye) temin edilmiştir.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Malzemeler ve Ekipmanlar

Çalışmamız boyunca kullanılan malzemeler ve ekipmanlar alt başlıklar halinde listelenmiştir.

3.1.3.1. Kimyasallar

Kullanılan Kimyasallar **Tablo 3.1**'de listelenmiştir.

Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal maddeler, temin edilen firmalar.

Kimyasal adı	Firma adı
8-hidroksikinolin	Sigma Aldrich
(NH ₄) ₂ SO ₄	Merck
Agar	Merck
Agaroz	Prona
Amonyum metavanadat	Sigma Aldrich
Amonyum molibdat	Sigma Aldrich
Asetik asit	Merck
Biotin	Sigma Aldrich
Ca ₃ PO ₄	Merck
CaCl ₂ .2H ₂ O	Sigma Aldrich
CuSO ₄ .5H ₂ O	Sigma Aldrich
D-Glukoz Monohidrat	Riedel-De Haen
FeCl ₃ .6H ₂ O	Sigma Aldrich
FeSO ₄ .7H ₂ O	Sigma Aldrich
Gliserol	Sigma Aldrich
Glisin	Merck
Gram Boyama Seti	Sigma Aldrich
H ₃ BO ₃	Sigma Aldrich
HCl	Sigma Aldrich
Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür (HDTMA)	Sigma Aldrich
Hidrojen peroksit	Sigma Aldrich
HNO ₃	Sigma Aldrich
İmmersiyon yağı	Merck
İyot	Merck
KCl	Sigma Aldrich
KOH	Zag

Tablo 3.1: Devam.

KH_2PO_4	Sigma Aldrich
Gram Boyama Seti	Sigma Aldrich
H_3BO_3	Sigma Aldrich
HCl	Sigma Aldrich
Hekzadesiltrimetilamonyum Bromür (HDTMA)	Sigma Aldrich
Hidrojen peroksit	Sigma Aldrich
HNO_3	Sigma Aldrich
İmmersiyon yağı	Merck
İyot	Merck
KCl	Sigma Aldrich
KOH	Zag
KH_2PO_4	Sigma Aldrich
KI	Sigma Aldrich
LB agar	Caisson
LB sıvı besiyeri	Caisson
L-Malik asit	Thermo Scientific
L-Triptofan	Sigma Aldrich
Maya özütü	Merck
$\text{MgCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Merck
Mineral yağ	Sigma Aldrich
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Sigma Aldrich
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Merck
Na_2SO_4	Merck
NaHCO_3	Sigma Aldrich
NaOH	Sigma Aldrich
NH_4Cl	Merck
N-Z Amine (Kazein Hidrolizat)	Sigma Aldrich
Pepton	Merck
Perklorik asit	Sigma Aldrich

Tablo 3.1: Devam.

Pikrik asit	ISOLAB
N-Z Amine (Kazein Hidrolizat)	Sigma Aldrich
Pepton	Merck
Perklorik asit	Sigma Aldrich
Pikrik asit	ISOLAB
Piperazin	Merck
Pridoksin	Sigma Aldrich
Tripton	Biolife
Tris-HCl	Applchem
ZnO	Merck
ZnSO ₄ .7H ₂ O	Sigma Aldrich

3.1.3.2. Cihazlar

Kullanılan cihazlar **Tablo 3.2'**de listelenmiştir.

Tablo 3.2: Kullanılan cihazlar, modelleri ve firmaları.

Cihaz adı	Cihaz modeli	Firma adı / Ülke
pHmetre	pH 211 Microprocessor	Hanna Instruments, ABD
Otoklav cihazı	HICLAVE HVE-50	HIRAYAMA, Japonya
Santrifüj	NF 1200R	Nuve, Türkiye
Vorteks	VM10	Daihan Scientific, Kuzey Kore
Steril Kabin	HP48	Heraeus,Almanya
Spektrofotometre	UV1800	Shimadzu, Japonya
UV Görüntüleme cihazı	3026WL/26M	Vilber Laurmat Infinity- ABD
Su banyosu	TE-10A Tempette	TECHNE, İngiltere
Mikrodalga fırın		Samsung
NanoDrop™ Lite Spektrofotometre		Thermo Scientific™, ABD
Çeker ocak		Tezsan, Türkiye
Buz makinesi	BF85	BAR-LINE, İtalya
-20°C derin dondurucu		BOSCH, Almanya
-80°C derin dondurucu	Forma 86°C ULT Freezer	Thermo Scientific, ABD
Mikrosantrifüj	Z216M	Hermle, Almanya
Mikroskop	E100	Nickon Eclipse
McFarland Cihazı	BD CrystalSpec	Becton Dickinson, ABD
Mikroplaka okuyucu		FluostarOmega,Almanya
Jel tankı	Mini-Sub Cell GT	Biorad, ABD
Etüv	INCUB-Line IL 53	VWR, ABD
Etüv	B6	Heraeus, Almanya
Hassas Terazı	Kern, Ewy	Kern, Almanya

3.1.3.3. Ayıraçlar

Kullanılan ayıraçlar **Tablo 3.3**'te listelenmiştir.

Tablo 3.3: Kullanılan ayıraçlar ve firmaları.

Ayıraçlar	Firma adı
Nessler's Reaktifi	Merck
N'N'N'N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin	Sigma Aldrich
Bromtimol mavisi	Sigma Aldrich

3.1.3.4. Çözeltiler

Kullanılan çözeltiler **Tablo 3.4**'te listelenmiştir.

Tablo 3.4: Kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları.

Çözelti	Hazırlanışı
%1 Malaşit Yeşili	1.0 g malaşit yeşili boyası 100 mL distile suda çözüldü.
%1 (w/v) N'N'N'N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin	0.1g N,N,N',N'-tetrametil- <i>p</i> -fenilendiamin, 10 mL distile suda çözüldü.
%1(w/v) İyot çözeltisi	1 g iyot (I ₂), 100 mL distile suda çözüldü.
%2(w/v) KI çözeltisi	2 g KI, 100 mL distile suda çözüldü.
%1.64 Fe-EDTA	0.164 g Fe-EDTA 10 mL distile suda çözüldü.
%0.5 Bromtimol mavisi	5.0 mg Bromtimol mavisi, 1 mL distile suda çözülerek son hacim 0.2 M KOH ile 10 mL'ye tamamlandı.
%10 FeCl ₃	12 g FeCl ₃ ·6H ₂ O, 100 mL distile suda çözüldü ve 2.5 mL HCl eklendi.
0.5 M KOH	93.05 g EDTA, 500 mL distile suda çözüldü ve pH 8'e ayarlandı.
%30 Asetik Asit	70 mL distile suya 30 mL asetik asit eklendi.

Tablo 3.4: Devam.

%3 H ₂ O ₂	3.0 mL H ₂ O ₂ ' ye 97 mL distile su eklendi.
0.2 N KOH	0.56 g KOH, tartılarak 50 mL distile suda çözüldü.
50X TAE Tamponu	242 g Tris-base, 700 mL distile suda çözüldü, 57.1 mL %100 asetik asit ve 100 mL 0.5 M EDTA ilave edildi. Çözelti, distile su ile 1 litreye tamamlandı.
1X TAE Tamponu	20 mL 50X TAE tampon çözeltisine 980 mL distile su eklendi.
Mavi Boya Çözeltisi	0.06 g CAS, 50 mL deiyonize suda çözüldü. 0.0027g FeCl ₃ ·6H ₂ O, 10 mL 10 mM HCl içinde çözülmüştür. 0.073 g HDTMA, 40 mL deiyonize suda çözülmüştür. 1.5 mL FeCl ₃ çözeltisi ile 7.5 mL CAS çözeltisi karıştırıldı ve ardından HDTMA çözeltisi eklenmiştir. 4.307 g piperazin, 30 mL suda çözülüp, pH değeri derişik HCl ile 5.6'ya ayarlandıktan sonra CAS-HDTMA karışımına ilave edilmiş ve son olarak distile su ile hacim 100 mL'ye tamamlandı
CAS Reaktifi	0.06 g CAS, 50 mL dH ₂ O'da; 0.0027 g FeCl ₃ ·6H ₂ O, 10 mL 10 mM HCl içerisinde; 0.073 g HDTMA, 40 mL dH ₂ O'da çözülüp, sırasıyla karıştırıldı. 4.307 g piperazin, 30 mL suda çözülüp pH 5.6 olarak ayarlandı ve tüm karışım distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
Barton Reaktifi	0.25 g amonyum molibdat, 4 mL deiyonize suda çözülüp, 0.025 gram amonyum metavanadat 6 mL kaynar suda eritildikten sonra, 2.5 mL nitrik asit ilave edilerek karıştırıldı ve toplam hacim 10 mL'ye tamamlandı.

Tablo 3.4: Devam.

Fe-EDTA	3.8 g $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 'dan 1 M NaOH 10 ml içerisinde çözündürüldü. 2.5 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ise 5 ml dH_2O 'da çözüldü. Hazırlanan İki solüsyon karıştırılarak 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi ve filtre edildikten sonra süzüntü iki kez %95 EtOH ile yıkandı. Oda sıcaklığında kurutulduktan sonra toz olarak elde edildi.
Salkowski Ayırıcı	Hazırlanan 0.5 M $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinden 1 ml üzerine 49 ml %35 perklorik asit eklendi
Fizyolojik Tuzlu Su(FTS)	8.5 g NaCl, 1 L distile su (dH_2O) içinde çözülüp, 121°C 'de 15 dakika süreyle otoklavlandı.
Pikrik asit çözeltisi	%2 NaHCO_3 ve %0.5 pikrik asit çözeltisi eklenerek, 1 litre distile su içerisinde hazırlandı.
İyodin çözeltisi	1 g İyot, 100 mL distile su içerisinde çözüldü, çözülmesine yardımcı %2 KI eklenerek hazırlandı

3.1.3.5. Boyalar

Boyalar **Tablo 3.5.**'te listelenmiştir.

Tablo 3. 5: Kullanılan boyalar ve firmalar.

Boya	Firma adı
6X Jel yükleme boyası	Thermo Scientific
Chrome Azurol S	Sigma Aldrich
Kristal Viole	Merck
Malaşit yeşili	Merck
Red -safe jel boyası	Abm

3.1.3.6. Kit ve Reaktifi

Kullanılan Kit ve reaktifi **Tablo 3.6.**'te listelenmiştir.

Tablo 3.6: Kullanılan Kit ve reaktif.

Kit / Reaktifi	Firma adı
PureLink Genomic DNA Miniprep Kit	Invitrogen
DreamTaq Green DNA Polymerase	Thermo Scientific

3.1.3.7. DNA Moleküler Belirteçleri

Kullanılan DNA Moleküler belirteçleri **Tablo 3.7**'de listelenmiştir.

Tablo 3.7: Kullanılan DNA belirteçleri.

DNA Moleküler Belirteçleri	Firma adı
Lambda DNA/Hind III ladder	Hibrogen
100 bp ladder plus	Hibrogen

3.1.3.8. Besiyerleri

Kullanılan besiyeri içerikleri **Tablo 3.8**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.8: Kullanılan besiyeri içerikleri.

LB Agar	LB Sıvı Besiyeri	SIM Agar	Peptonlu su
40 g LB agar 1 litre distile su (dH ₂ O)'da çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	25 g LB sıvı besiyeri 1 litre distile su (dH ₂ O)'da çözüldükten sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	30 g SIM içeriği 1 litre suda kaynatılarak çözüldü ve ardından tüplere eşit olarak bölündükten sonra 121°C de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	1 litre distile su içinde 25.5 g peptonlu su çözülp, 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı.
Nutrient Agar	NfB Agar	Pikovskaya Agar	Pikovskaya Sıvı Besiyeri
20 g Nutrient Agar 1 litre distile su içerisinde çözüldükten sonra 121 °C de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	5 g/L L-Malik asit, 0.5 g/L KH ₂ PO ₄ , 0.2 g/L MgSO ₄ .7H ₂ O, 0.2 g/L NaCl, 1 ml/L Vitamin solüsyonu (100 ml distile su içerisinde 10 mg Biotin ve 20 mg Pridoksin çözüldü), 2ml/L Mikro element solüsyonu (0.2 g Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O, 0.235 g MnSO ₄ .H ₂ O, 0.28 g H ₃ BO ₃ , 0.008 g CuSO ₄ .5H ₂ O, 0.24 g ZnSO ₄ .7H ₂ O 1000 ml distile su içerisinde çözüldü), 4 ml/L Fe-EDTA (%1.64 solüsyon), 15 gram Agar ve 2ml/L Bromtimol mavisi (0.2 N KOH ile çözüldü), eklendikten sonra pH: 6.8'e 1 N KOH ile ayarlanarak 1 litre olacak miktarda distile su ile tamamlanarak 121°C de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	10g/L Glukoz, 5 g/L (Ca ₃ PO ₄) ₂ , 0.5 g/L (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0.2 g/L KCl, 0.1 g/L MgSO ₄ .7H ₂ O, 0.5 g/L maya özütü, 0.0001 g/L MnSO ₄ .H ₂ O, 0.0001 g/L FeSO ₄ , 15 g/L agar eklenerek son hacim 1 litreye tamamlandı. pH 7'ye ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı.	10g/L Glukoz, 5 g/L (Ca ₃ PO ₄) ₂ , 0.5 g/L (NH ₄) ₂ SO ₄ , 0.2 g/L KCl, 0.1 g/L MgSO ₄ .7H ₂ O, 0.5 g/L maya özütü, 0.0001 g/L MnSO ₄ .H ₂ O, 0.0001 g/L FeSO ₄ eklenerek son hacim 1 litreye tamamlandı. pH:7'ye ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dakika otoklavlandı.

Tablo 3.8: Devam.

Tris-Minimal Salt Agar	Triptik Soy Sıvı Besiyeri	Simmon Sitrat Agar	(MR-VP) Sıvı Besiyeri
Tüm cam malzemeler 0.1 M HNO ₃ ile yıkanıp, distile su ile durulandı. 6.06 g/L Tris-HCl, 4.68 g/L NaCl, 1.49 g/L KCl, 1.07 g/L NH ₄ Cl, 0.43 g/L Na ₂ SO ₄ , 0.2 g/L MgCl ₂ .2H ₂ O, 30mg/L, CaCl ₂ .2H ₂ O, %0.1 ZnO, Agar 15g/L ve Karbon kaynağı olarak 10 g/L D-Glukoz eklendikten sonra pH:7.0 HCl ile ayarlandı ve son hacim 1 litre olacak şekilde distile su ile tamamlanarak 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	30 g Triptik Soy Sıvı Besiyeri 1 litre distile su içerisinde çözülerek 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı. MPYE (Mineral Peptone Yeast Extract) 5 g/L Maya özütü, 3 g/L Pepton, 1.6 mM MgCl ₂ (1 M Stok solüsyonu), 1 mM CaCl ₂ (1M Stok) eklendikten sonra tüm karışım homojen haline getirildi ve pH 7.0 ayarlandı ve son hacim 1 L'ye tamamlanarak 121°C 'de 15 dakika boyunca otoklavlandı.	24.2 g Simmon Sitrat agar 1 litre dH ₂ O'da çözüldü. Tüplere eşit hacimlerde bölünerek 121°C'de 15 dakika otoklavlandıktan sonra yatık agar olarak katılaşması sağlandı.	17 g MR-VP besiyeri 1 litre distile su içerisinde çözüldükten sonra tüplere eşit hacimlerde bölünerek 121°C de 15 dakika boyunca otoklavlandı.
CAS Blue Agar : Besiyeri hazırlanmadan önce Tüm cam malzemeler 6 M HCl ile yıkanıp, distile su ile durulandı. Mavi Boyanın Hazırlanışı: Solüsyon 1 : 0.06 g CAS (Sigma Chemicals) 50 mL distile su içerisinde çözüldü. Solüsyon 2 : 0.0027 g FeCl ₃ .6H ₂ O 10 mL 10 mM HCl içinde çözüldü . Solüsyon 3 : 0.073 g (HDTMA) 40 mL distile su içerisinde çözüldü. 1.solüsyondan 9 mL alınıp, 2. Solüsyon ile karıştırıldı ve sonrasında 3. Solüsyonun eklenmesiyle mavi renk oluşumu görüldü.			

Tablo 3.8: Devam.

Karışım solüsyonları : MM9 (Minimal Media 9) Tuz çözeltisi : 15 g KH_2PO_4 , 25 g NaCl ve 50 g NH_4Cl 500 ml distile su içerisinde çözöldü; %20 Glikoz çözeltisi (20g/L Glikoz 100 mL distile su içerisinde çözöldü); NaOH solüsyonu (25 gram NaOH 150 mL distile su içerisinde çözöldü); N-Zaminoasit solüsyonu: 3 gram N-Z amino asit 13.5 mL distile su içerisinde çözöldükten sonra %3 8-hidroksikuinolin 13.5 mL kloroform içerisinde çözöldükten sonra $+4^\circ\text{C}$ 'de bir gece inkübe edildikten sonra ekstrakte edildiğinde 2 faza ayrılan solüsyondan üst kısımdaki kloroformun uzaklaştırılması için, 1 saat boyunca Çeker ocakta bekletildi. Ardından membran filtre (0.22um)'den geçirilerek steril edildi. CAS Blue Agar hazırlama : 750 mL distile suya 100 mL MM9 besiyeri solüsyonu ilave edilerek karıştırılmış ve 32.34 g piperazin N-N,N'-bis(2-etansülfonik asit) (PIPES) tamamen çözünene kadar eklenmiştir. Çözeltinin içerisinde 15 g/L agar eklenerek, karışım 121°C 'de 15 dakika boyunca otoklavlandı. Otoklav sonrası besiyeri, 50°C 'ye kadar soğutulmuş ve içerisinde 30 mL steril N-Z amino asit solüsyonu ve 10 mL %20 glikoz çözeltisi eklenerek homojen bir karışım elde edildikten sonra 100 mL mavi boya solüsyonu ilave edilerek CAS agar besiyeri hazır duruma getirildi.

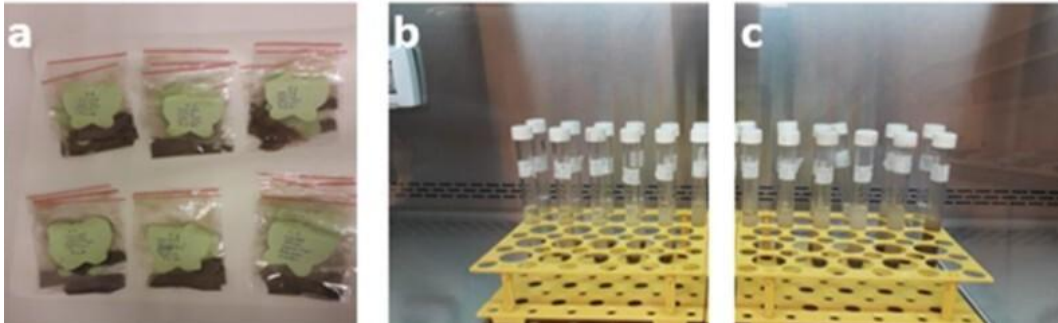
3.2. Yöntem

3.2.1. Toprak Örneklerinin Alınması

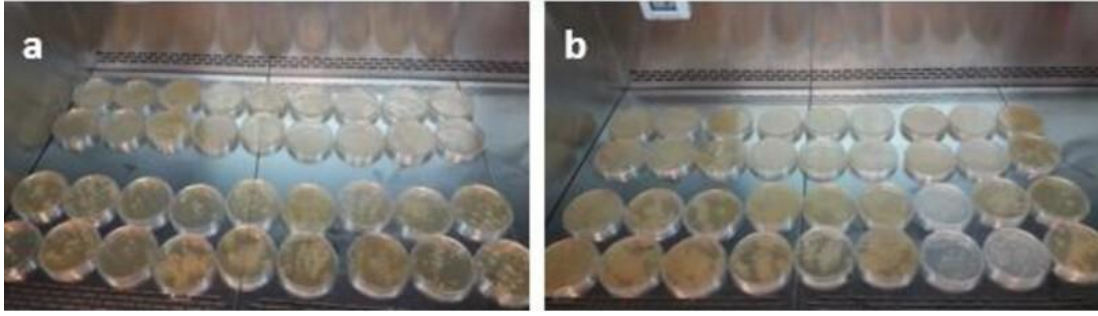
2018-A-105-04 sayılı BAP projesi (Gül-Şeker, 2021) kapsamında, Tekirdağ Süleymanpaşa ilçesinde bulunan 6 farklı hububat ekim alanından toprak örnekleri alınmıştır. Toplanan toprak örnekleri 4 mm çaplı elekten geçirilerek kullanılıncaya kadar +4°C’de saklandı.

3.2.2. Topraktan Bakteri İzolasyonu

Topraktan bakteri izolasyonu için Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırları içerisinde bulunan hububat ekim alanlarının altı farklı örnekleme alanından rizosfer toprak örnekleri alındı (Şekil 3.1a). Eleme işleminden sonra, toprak örnekleri peptonlu suya (1 g/10 mL) inoküle edilip, sporların çimlenmesi ve kültüre edilebilir olanların seçilmesi için 30°C ve 37°C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, tüplerden elde edilen süpernatant, fizyolojik tuzlu su (FTS) (%0.85 (w/v) ile 10⁰’den 10⁻⁸’e kadar seyreltildi. Ardından, her seri dilüsyon (10⁻⁶’dan 10⁻⁸’e kadar) 100 µL sıvı, LB agar ortamına iki tekrarlı olarak ekildi. Petri kutuları 30°C ve 37°C’de 24 saat inkübe edildi (Şekil 3.1b). İnkübasyondan sonra, gözlemlenen koloniler, koloni şekilleri, özellikleri ve Gram/spor boyama testleri için LB agar ortamına ayrı ayrı çizildi (Şekil 3.2a, Şekil 3.2b). Saf bakteri kültürleri, %80 gliserol içeren sıvı LB besiyerinde -20 °C ve -80 °C’de saklandı.



Şekil 3.1: a) 6 Farklı bölgeden alınan toprak örnekleri , b) 30°C’de inkübe edilen toprak örnekleri, c) 37°C’de inkübe edilen toprak örnekleri.



Şekil 3.2: a) 37°C de inkübe edilen toprak örneklerinin (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) seri dilüsyonlarının LB besiyerine ekimi, b) 30°C de inkübe edilen toprak örneklerinin (10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}) seri dilüsyonlarının LB besiyerine ekimi.

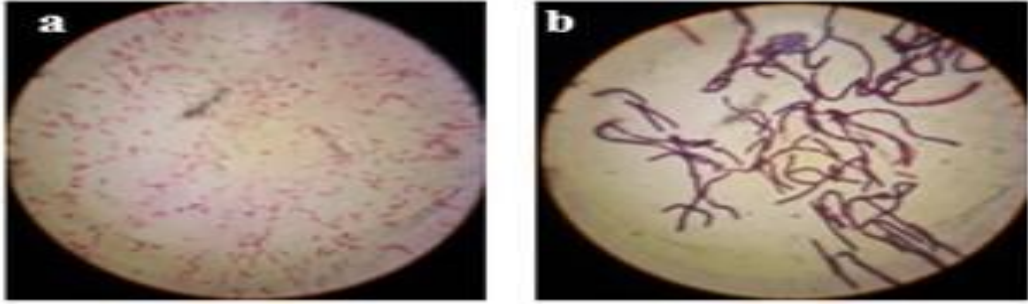
3.2.3. Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyon

Elde edilen Bakteri izolatları ‘Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology’ adlı el kitabından önerilen morfolojik ve biyokimyasal testler ile karakterize edildi [Bergey vd., 1994]. İzolasyon aşamasında tek koloni olarak saflaştırılan izolatlar için ön tanımlama testlerinden olan Gram boyama, Spor boyama, Oksidaz ve Katalaz testleri yapıldı.

3.2.3.1. Gram Boyama

Gram boyama, mikrobiyolojide bakterilerin hücre duvarı yapılarındaki farklılıklara dayalı olarak sınıflandırılmasında yaygın olarak kullanılan önemli bir diferansiyel boyama yöntemidir. İşlemler, öncelikle bakterilerin kristal viyole ile boyanmasıyla başlamasının ardından, boyanın hücre dışına kolaylıkla çıkmasını önlemek amacıyla Lugol çözeltisi (iyot çözeltisi) uygulanarak kompleks bir yapı oluşturulur. Boyamanın üçüncü aşamasında, etanol ile dekolorizasyon işlemi yapılarak bu aşamada, Gram pozitif bakteriler, kalın ve çapraz bağlı peptidoglikan tabakalarından dolayı su kaybederek büzüşür ve hücre duvarındaki porlar kapanmasından dolayı kristal viyole–iyot kompleksinin hücre içinde kalmasını sağlar ve dolayısıyla Gram pozitif bakteriler mor renk olarak kalır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarları ise ince peptidoglikan tabakası ve lipit tabakasına sahip olup Etanol ile muamelede lipit tabakanın çözünerek geçirgenliği artırmasına ve hücre duvarında bulunan porların açılmasına neden olarak kristal viyole–iyot kompleksi hücre dışına sızar ve bakteriler renksizleşir, bazik fuksin ya da safranin gibi bir karşıt boya uygulanarak renksizleşen Gram negatif bakteriler

pembe-kırmızı renkte boyanır. Böylece mikroskop altında Gram pozitif bakteriler mor, Gram negatif bakteriler ise pembe-kırmızı olarak ayırt edilebilir [Tripathi vd., 2024]. Gram boyama işlemi için 18-24 saat inkübasyona bırakılan taze kültürlerden ateşte steril edilen öze yardımcı ile örnek alınarak lam üzerine yayıldı, ateşte fiks edildi ve daha sonra sırasıyla her bir aşama arasında distile su ile yıkanarak sırasıyla kristal viole ile 1 dakika, lugol ile 1 dakika, alkol ile (0-15 saniye) ve safranin 30 saniye boyunca bekletildi. Boyama işleminden sonra kuruyan lamlar 100X objektifte immersiyon yağı ile ışık mikroskobu altında görüntülendi ve fotoğraflandı. Gram boyama sonuçlarına göre mor renk olanlar Gram pozitif, pembe renkli olanlar Gram negatif olarak kaydedildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: a) TSR1A-5 izolata ait Gram boyama (Gram negatif (-)) görüntüsü, b) TSR1A-4 izolata ait Gram boyama (Gram pozitif (+)) görüntüsü.

3.2.3.2. Spor Boyama

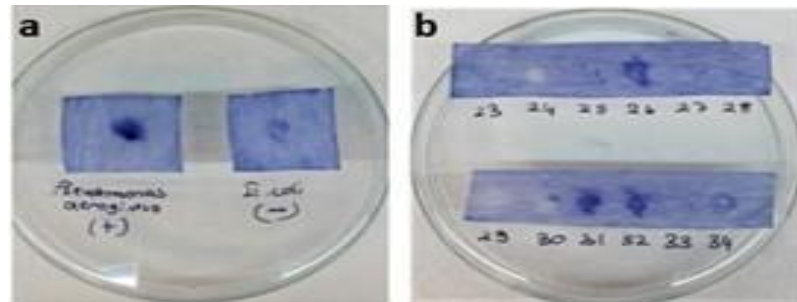
Spor boyama, endosporların varlığını, konumunu ve morfolojisini tespit etmek amacıyla, genellikle Schaeffer-Fulton metodu ile ısı kaynağı altında malaşit yeşili kullanılarak yapılan bir ayırıcı boyama tekniğidir [Acet, 2023]. Bu testte saf olarak izole edilen bakteri kültürlerinin 5 gün boyunca +4°C’de spor üretimi için bekletildi. Bekletilen izolatlardan ateş ile sterilize edilen öze yardımcı ile lam üzerine yayıldı, Kurumasının hemen sonrasında lam üzerini örtecek şekilde filtre kağıdı kesildi ve üzerine malaşit yeşili (%1 w/v) damlatılarak filtre kağıdının kurumasına izin verilmeden 5 dakika boyunca ısıtma tablasında boyandı, ardından distile su ile yıkandı ve vejetatif hücrelerin boyanması için bazik boya olan safranin ile 30 saniye boyandı ve distile su ile yıkandı. Kurumasının ardından preparatlar immersiyon yağı kullanılarak ışık mikroskobunda görüntülendi ve fotoğraflandı (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: TSR4B-117 izolata ait spor boyama görüntüsü.

3.2.3.3. Oksidaz Testi

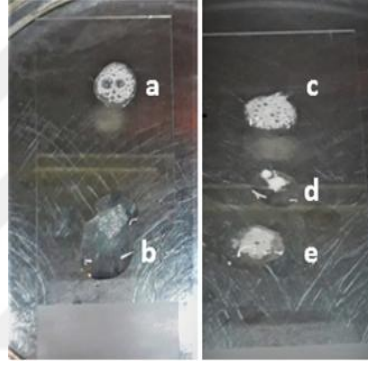
Oksidaz testi, bakterilerde sitokrom c oksidaz enziminin varlığını belirlemek için yapılan ve bu enzimin varlığında tetrametil-p-fenilendiamin gibi boyaları yükseltgenerek mavi/mor renk ile oksidaz (+) olduğunu gösterirken, renksiz durumundan ise oksidaz(-) olduğunu gösteren bir testtir [Chavan vd., 2022]. Bu test için 18-24 saat inkübasyona bırakılan saf ve taze kültürleri ayıraç emdirilen filtre kağıdı üzerine steril öze yardımı ile kağıt üzerine yayıldı. Ayıraç olarak ise, N'-N'-N'-N'-tetramethyl-p-phenylenediamine (%1 w/v) kullanıldı. Negatif kontrol bakterisi olarak *E.coli K12*, Pozitif kontrol bakterisi olarak *P.aeruginosa* ATCC 15692 kullanıldı. Negatif kontrolün olduğu filtre kağıdı üzerinde beyaz renk oluşumu görülürken, pozitif kontrolün olduğu filtre kağıdında ise mor renk aldığı gözlemlendi. Bu işlem elde edilen bütün izolatlara uygulandı ve ilk 20 saniyede değerlendirilip kaydedildi (Şekil 3.5a), (Şekil 3.5b).



Şekil 3.5: Oksidaz testi. a) Pozitif kontrol (*P.aeruginosa* ATCC 15692)(+), Negatif kontrol (*E.coli* K12)(-) b) Bazı izolatlara ait Oksidaz test sonuçları.

3.2.3.4. Katalaz Testi

Katalaz testi, aerobik mikroorganizmaların hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştüren katalaz enzim aktivitesini belirleyerek, oksidatif hasara karşı koruyucu görev yapar [Khatoon vd., 2022]. Katalaz testi için 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların kolonilerinden steril öze yardımı ile lam üzerine yayıldı ve üzerine Pasteur pipeti yardımı ile %3'lük H₂O₂' den bir damla damlatıldı ve hemen ardından hava kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, Negatif kontrol bakterisi olarak *Salmonella gallinarum* kullanıldı (Şekil 3.6).



Şekil 3.6: Katalaz testi. **a)** Pozitif kontrol (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213) (+++), **b)** Negatif kontrol (*Salmonella gallinarum*) (-), **c)** TSR1A-7 (+++), **d)** TSR1A-8 (+) ve **e)** TSR1A-9 (++)

3.2.4. İzolatların Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Araştırılması

3.2.4.1. Azot Fiksasyonu

İzolatların N fiksasyon yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla N'un serbest ortamda pH duyarlı bromtimol mavisi içeren Nfb besiyerindeki yeşilimsiden mavi renge değişimi ile belirlendi. İzolatlar Nfb besiyerine nokta ekim yapılarak 30°C 7 gün boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında besiyerindeki renk değişimlerine göre az (+), orta(++), ve çok iyi (+++) olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 kullanıldı.

3.2.4.2. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)

İzolatların fosfatı çözünebilme kabiliyeti Pande ve diğerlerinin (2017) yöntemine göre Pikovskaya agar besiyeri (PVK) kullanılarak belirlendi. İzolatların 18-24 saat inkübasyona bırakılan taze kültürleri PVK agar besiyerine nokta ekim yapılarak 30°C'de 7 gün boyunca inkübe edildi. Kolonilerin etrafında oluşan şeffaf zon ölçülerek Fosfat çözünürlük indexi (PSI) aşağıdaki formüle göre hesaplandı [Lihan vd., 2021]:

$$PSI = (\text{Koloni çapı} + \text{Şeffaf bölgesi çapı}) / \text{Koloni çapı} (1)$$

3.2.4.3. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kantitatif)

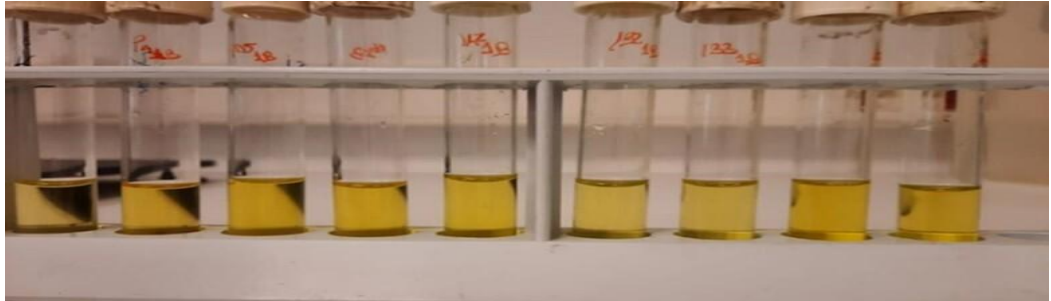
Çözünmüş fosfat miktarı Pingale ve Virkar (2013) tarafından tarif edilen vanado-molibdat fosforik asit yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu yöntemle göre, Kalitatif yöntem olan PVK agar besiyerinde en iyi Fosfat çözünürlük indeksi belirlenen 7 izolat için bu test gerçekleştirildi. 18-24 saat inkübasyona bırakılan yedi izolatın taze kültürleri turbidimetre yardımıyla 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. Her bir izolat %2'lik (v/v) oranında aşılama yapılarak, üç tekrarlı olarak Pikovskaya sıvı besiyerine ekildi ve Kültürler 30°C'de 150 rpm hızında çalkalamalı inkübatörde 10 gün boyunca inkübe edildi (Şekil 3.7). Pozitif kontrol bakterisi olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu, bakteri ekimi yapılmayan besiyeri ise negatif kontrol olarak kullanıldı. 10 günün sonunda, her izolattan 4 mL toplandı ve 14.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. 2 mL süpernatant kısmından alınarak Whatman kağıdında süzüldü ve süzüntünün 1 mL'lik kısmına 250 µL Barton reaktifi eklendi (Şekil 3.8),(Şekil 3.9). Son hacim steril dH₂O ile 5 mL'ye tamamlandı. 10 dakika sonra, örnekler UV/Vis spektrofotometre kullanılarak optik yoğunluğu 430 nm'de (OD₄₃₀) ölçüldü. Örnekler içerisindeki fosfat içeriği hazırlanan standart kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı. Standart eğrisi KH₂PO₄ kullanılarak 0.8-8 ppm aralığında oluşturuldu.



Şekil 3.7: Seçilen 7 izolatın 10 gün sonunda Pikovskaya sıvı besiyerindeki görüntüleri.



Şekil 3.8: Santrifüj sonrası Whatman kağıdında süzme işlemi.



Şekil 3.9: Elde edilen süzüntüye Barton reaktifi eklenmesi.

3.2.4.4. Siderofor Üretimi (Kalitatif)

Siderofor üretimi Louden ve diğerleri (2011) tarafından önerilen yöntemle göre analiz edilmiştir. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürleri CAS blue agar besiyerine nokta ekim yöntemi ile ekildi ve 30°C’de 3 gün boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrası koloni etrafında oluşan sarı-turuncu zon oluşumu siderofor üretiminin belirtisi olup, Siderofor indeksi (SI) aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi [Heo vd., 2022].

3.2.4.5. Siderofor Üretimi (Kantitatif)

Kalitatif olarak değerlendirilen izolatlar içerisinde CAS blue agar besiyerindeki en iyi Siderofor indeks sonucu gösteren 15 izolat seçildi. Seçilen 15 izolata Arora ve Verma, (2011) tarafından önerilen metod ile izolatların kantitatif olarak siderofor üretimini belirlemek amacıyla 18-24 saat inkübasyona bırakılan 15 izolatın taze kültürlerinden 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı, her bir izolat için 3 tekrarlı olacak şekilde 1.5 mL hacminde santrifüj tüplerine 1 mL LB sıvı besiyeri eklenip, 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlanan izolatlardan 10 µL eklenerek 30°C de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyonun sonunda santrifüj tüpleri 10.000 rpm’de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra pellet kısmı süpernatant kısmından ayrılıp, süpernatant kısmından 0.5 mL alınarak 15 mL’lik cam tüplere siderofor miktarını belirlemek amacıyla aktarıldı. Süpernatant kısmına Payne, (1994) tarafından CAS Sıvı deney için kullanılacak solüsyondan 0.5 mL alınarak süpernatant üzerine eklendi ve 20 dakika sonra Spektrofotometre cihazında 630 nm’ de okutuldu. Payne, (1994) tarafından önerilen aşağıda belirtilen formül kullanılarak izolatların siderofor üretim miktarları(%) belirlendi.

$$\text{Siderofor üretimi (\%)} = (\text{Ar} - \text{As}) / \text{Ar} * 100$$

Bu formülde **Ar** referansın absorbans değerini (0.5 mL LB sıvı besiyeri + 0.5 mL CAS çözeltisi), **As** ise izolatın absorbans değerini (0.5 mL CAS çözeltisi+ 0.5 mL pellet içermeyen LB sıvı besiyeri) ifade etmektedir.

3.2.4.6. Amonyum Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)

Amonyum üretiminin varlığı Cappuccino ve Sherman (2002) tarafından belirlenen yöntem kullanılarak gerçekleştirildi. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürlerinden 0.5 McFarland bakteri bulanıklığına ayarlandı. 10 mL Pepton sıvı besiyeri içerisine 0.5 McFarland bulanıklığına izolatlardan %2’lik aşılama yapıp 30°C’de 72 saat boyunca inkübe edildi. 72 saat sonunda her bir izolat için tüp içerisinde 0.5 mL Nessler’s reaktifi (0.5 mL) eklenerek amonyum üretiminin kolorimetrik olarak varlığı belirlendi. Amonyum üretiminin varlığı sarıdan kahverengiye renk değişimi ile gözlemlendi ve 530 nm’de absorbans değerleri ölçüldü ve Amonyum sülfat ((NH₄)₂SO₄) ile (50-100-200-500 ve 1000 ppm)

konsantrasyonlarında hazırlanarak Standart kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Standart kalibrasyon eğrisine göre izolatların amonyum üretim miktarları hesaplandı. Pozitif kontrol olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu kullanıldı.

3.2.4.7. IAA Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)

İzolatların IAA üretimi Gordon ve Weber, (1951) tarafından önerilen yöntem kullanılarak belirlendi. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürleri 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. %0.1 L-triptofan içeren LB broth içerisine %2'lik aşılama yapılarak 30°C'de 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonun sonrasında her bir izolat 10000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant kısmından 500 µL alınıp üzerine 500 µL Salkowsky reaktifi eklenerek karanlıkta 30 dakika bekletildi ve 530 nm'de ölçüldü. Pozitif kontrol bakterisi olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 ve *E.coli* K12 suşları kullanıldı, diğer izolatlar ile karşılaştırıldı. Standart kalibrasyon eğrisi 5-100 µg/ml IAA (Sigma Chemicals) ile hazırlanarak izolatların indol asetik asit üretim miktarı belirlendi.

3.2.4.8. HCN Üretimi (Kalitatif)

İzolatların HCN üretme yeteneklerini Miller ve Higgins, (1970) tarafından önerilen metod ile belirlendi. Bu metod doğrultusunda LB agar besiyerine Azot kaynağı olarak 4.4 g/L glisin eklendi. Steril filtre kağıtları petri boyutunda kesilerek, hazırlanan Pikrik asit solüsyonu içinde emdirilip Petri kapağına yerleştirildi ve ekim yapılan Petri parafilm yardımı ile hava almayacak şekilde sıkıca kapatıldı. 7 gün 30 °C' de inkübe edildi. 7 günün sonunda filtre kağıtlarındaki sarıdan kahverengiye doğru renk değişimleri kontrol grubuna göre kıyaslanarak derecelendirildi.

3.2.4.9. Çinko Çözme (Kalitatif)

İzolatların Çinko çözme yetenekleri Fasim ve diğerleri (2002) tarafından tarif edilen metoda göre belirlendi. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürleri Tris minimal salt agar besiyerine nokta ekim yapılarak 30°C de karanlıkta 14 gün boyunca inkübe edildi. Test iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 suşu kullanılırken, Negatif kontrol olarak boş besiyeri kullanıldı. 14 günün sonunda zon çapları ölçülüp derecelendirildi.

3.2.4.10. Biyofilm Üretimi

İzolatların biyofilm üretme kabiliyeti 96 kuyucuklu mikrotitre plakasında Christensen ve diğerleri (1985) tarafından tarif edilen kristal viyole test yöntemi kullanılarak test edildi. Test %1 (w/v) Glukoz içeren TSB (Tryptic Soy Broth) sıvı besiyeri kullanıldı. 96 kuyucuklu bir mikropakanın her kuyucuğa 100 µL TSB ve 100 µL izolat (0.5 McFarland yaklaşık 10^8 CFU/mL) eklendi ve her izolat için üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Mikrotitre plakaları 30°C'de 72 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 96 kuyucuklu hücre kültürü plakaları musluk suyuyla iyice yıkanarak yapışmamış hücreler uzaklaştırıldı. Ardından, her bir kuyucuğa 125 µL %0.1 (v/v) kristal viyole boya eklendi ve 15 dakika boyunca boyanmaya bırakıldı. Boyamanın ardından, plakalar fazla boyayı çıkarmak için musluk suyuyla tekrar yıkandı ve ardından oda sıcaklığında tamamen kurumaya bırakıldı. Kuruduktan sonra, bağlı kristal viyole boyayı çözünmesi için her bir kuyucuğa 200 µL %30 (v/v) asetik asit eklendi. Plakalar 15 dakika boyunca oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra bir mikropaka okuyucu (FLUOstar Omega, ABD) kullanılarak OD₆₀₀'de ölçüldü. Sonuçlar, pozitif kontrol bakterisi *P. aeruginosa* ATCC 15692 ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

3.4.5. Oluşturulacak Olan Mikrobiyal Konsorsiyum Aday İzolatların Seçilmesi Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması

Elde edilen bakteriyel izolatlar, 'Bergey's Manual of Determinative Bacteriology' adlı el kitabında önerilen morfolojik ve biyokimyasal test sonuçlarına göre karakterize edilerek belirlenen izolatlar arasından en iyi ve farklı bitki büyüme teşvik edici özelliklere sahip olan altı izolat seçildi. İzolatların tür düzeyinde tanımlanması için ise 16S rDNA bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile çoğaltılması ve dizilenmesi yöntemine başvuruldu.

3.4.5.1. Genomik DNA İzolasyonu

Çalışma kapsamında 6 izolatın genomik DNA izolasyonları PureLink® Genomik Kiti kullanılarak yapıldı. Genomik DNA izolasyonları için verilen protokol takip edildi (PureLink® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA).

3.4.5.2. DNA Miktarının Belirlenmesi

Genomik DNA'lar NanoDrop cihazında (Thermo Scientific, Nanodrop Lite Spectrophotometer/USA) kullanılarak 260nm absorbansta miktarı ve saflıkları ölçüldü.

3.4.5.3. DNA'nın Agaroz Jelde Yürütülmesi

İzolatlara ait tüm genomik DNA örneklerinin görüntülenmesi amacıyla %0.6'lık agaroz jel 1X TAE tamponu ile hazırlandı. Her bir izolatın genomik DNA örneklerinden 5 uL alınıp 1uL yükleme boyası (Loading Dye) ile karıştırılarak jel elektroforez tankındaki kuyucuklara yüklendi. 70-80V'ta yaklaşık 25 dakika boyunca yürütüldü ve uygun marker (1 kb DNA ladder) kullanılarak jel üzerinde UV görüntüleme sisteminde (Vilber-Lourmat infinity 3026, Fransa) görüntülendi ve fotoğraflandı.

3.4.5.4.16SrDNA Dizisinin PZR ile Çoğaltılması

İzolatların tür düzeyindeki tanımlanması için 16S rDNA bölgesinin amplifikasyonu, evrensel 27F ve 1491R primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) gerçekleştirildi. Primerlerin dizileri **Tablo 3.9.**'da gösterilmiştir.

PCR reaksiyon karışımının içerisinde 50 ng Kalıp DNA, 1X DreamTaq Green PCR Tamponu, 3 mM MgCl₂, her dNTP'den 200 µM, her primerden 10 µM ve 1.25 U/µL Taq polimeraz (Thermo Scientific) bulunmaktadır. Başlangıçta 95°C'de 3 dakika denatürasyondan sonra her bir termal döngü şu şekilde gerçekleşmiştir: 95°C'de 30 saniye denatürasyon, 58°C'de 1 dakika bağlanma ve 72 °C'de 1 dakika uzama. 30 döngünün sonunda, 72°C'de 10 dakika süreyle son bir uzatma adımı gerçekleştirildi.

Tablo 3.9: Kullanılan primer ve dizileri.

Primer adı	Dizisi	Bant boyutu	Kaynak
27F	5'-AGAGAGTTGATCCTGGCTCAGA-3'	~1500	Nitayaros vd., 2023
1491R	5'-ACGGCTTACCTTGTTACGACTT-3'		

Elektroforezde 90 V 30 dakika yürütüldükten sonra elde edilen yaklaşık 1500 bp'lik 16SrDNA kısmı UV altında belirlendi. PZR ürünleri daha sonra BMLabosis tarafından dizilendi ve elde edilen diziler, konsensüs dizilerini belirlemek için BIOEDIT programı kullanılarak düzenlendi ve hizalandı. Her örneğin konsensüs dizisi, Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) veritabanıyla karşılaştırıldı ve benzerlik oranları ile hangi türe benzer olabilecekleri belirlendi.

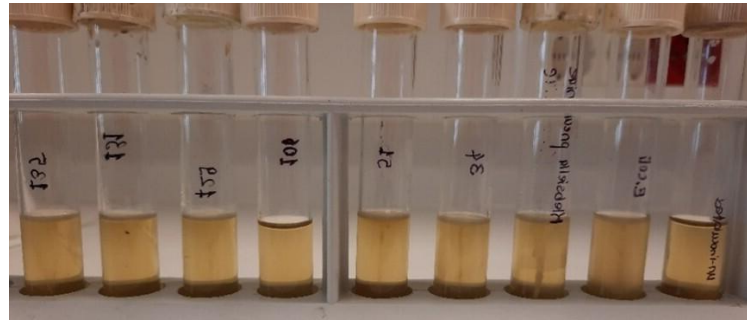


3.4.6. Seçilen İzolatların Fizyolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyonlarının Belirlenmesi

3.4.6. Hareketlilik Testi

Bu test mikroorganizmaların biyolojik karakteristiklerinin belirlenmesinde önemli taksonomik testlerden biridir. Bakterilerde çeşitli mekanizmalarda olsa da en yaygın olan hareketlilik etmeni kamçıların olmasıdır [Shields ve Cathcart, 2016].

Bu test için SIM (Sülfür-İndol- Hareketlilik) agar kullanıldı. SIM agar besiyeri iyice kaynatıldıktan sonra 15 ml'lik cam tüplere 5 mL eklenerek 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlandı. Besiyerinin rengi sarı-kahverengi renkte olup, pH : 7.3 ±0.2'dir. Otoklavlandıktan sonra her bir test tüpüne bölünen besiyerleri dik olarak soğumaya bırakıldı. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürlerinden alınan tek koloni, iğne uçlu öze yardımı ile fazla hareket ettirilmeden tek noktadan besiyerine dik olarak ekimi yapılarak 30°C de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında ekim çizgisi boyunca bulanıklığına göre değerlendirildi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *E.coli* ATC 25922, negatif kontrol bakterisi olarak *K. pneumoniae* kullanıldı (Şekil 3.10).

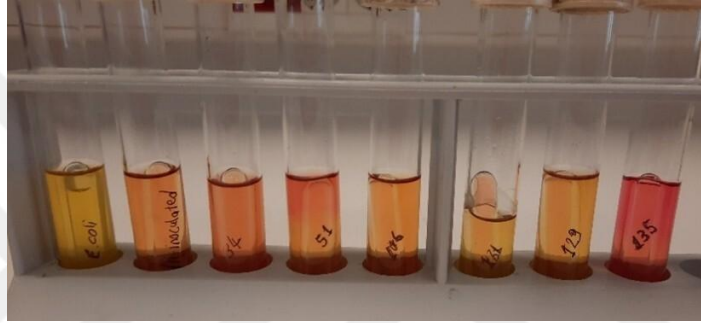


Şekil 3.10:Seçilen izolatlara ait Hareketlilik testi sonuçları.

3.4.6.2. Glukoz Kullanımı /Glukozdan Gaz Oluşumu

Bu test mikroorganizmaların belirli bir karbonhidratı fermente etme yeteneklerini belirlemek amacıyla kullanılmaktadır [Reiner, 2012]. Reiner (2012)'in metoduna göre glukoz kullanım testi için Fenol Kırmızısı sıvı besiyeri kullanıldı. Besiyeri 121°C de 15 dk otoklavlandıktan sonra besiyerine %5 Glukoz olacak şekilde, hazırlanan Glukoz

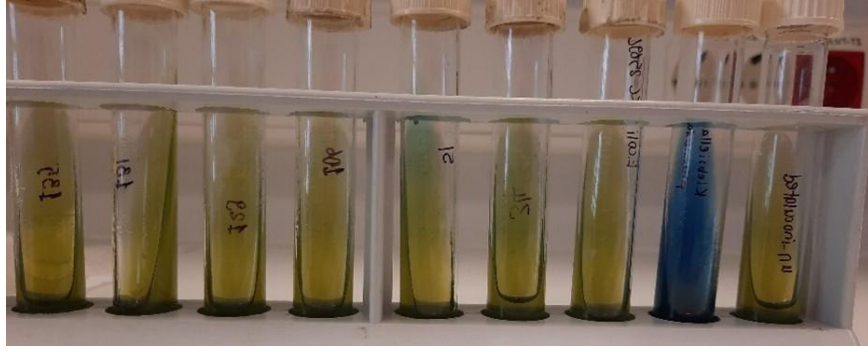
çözeltisi 0.2 µm por çaplı membran filtreden geçirilerek soğuyan Fenol Kırmızısı sıvı besiyerine eklendi. Ayrıca karbonhidratların fermente aşamasında gaz oluşumu meydana getirdiğini göstermek amacıyla her bir steril cam tüp içerisine steril Durham tüpleri eklendi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *E.Coli* ATCC 25922 kullanıldı. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürlerinden Fenol Kırmızısı besiyerine %2'lik aşılama yapıldı. 30°C'de 48 saat inkübasyon sonrasında yapılan gözlemler sonucunda izolatların glukoz kullanımları ve gaz oluşumları değerlendirildi ve fotoğraflandırıldı (Şekil 3.11).



Şekil 3.11: Glukoz kullanımı / Glukozdan Gaz Oluşumu.

3.4.6.3. Sitrat Kullanımı

Bu test bakterilerin Sitrata Karbon kaynağı olarak kullanıp kullanmadığını belirlemek amacıyla yapılan bir testtir. Sitrat kullanımına bağlı olarak ortamı alkali yan ürünlerinin oluşmasını sağlar. Ortamın pH'ında artış meydana gelmesi renk değişimi ile gözlemlenir [MacWilliams, 2009]. Besiyerindeki başlangıç rengi yeşil olup, pH'ı 6.9 iken, bakterilerin sitratı karbon kaynağı olarak kullandığında ise besiyerinin pH'ı 7.6 olur ve renk mavi renge değişir [Alexander ve Strete, 2001]. Sitrat kullanım testi için Simmon Sitrat agar besiyeri cam tüpler içerisinde yatık olarak hazırlandı. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürlerinden iğne uçlu öze yardımı ile alınarak Simmon Sitrat yatık agar besiyerine önce dip kısmına batırıldıktan sonra yatık kısım üzerine kaydırılarak ekim yapıldı. Ekimi tamamlanan izolatlar 37°C de 48 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında test sonucu değerlendirildi ve fotoğraflandırıldı. Pozitif kontrol olarak *K. pneumoniae* kullanıldı (Şekil 3.12).

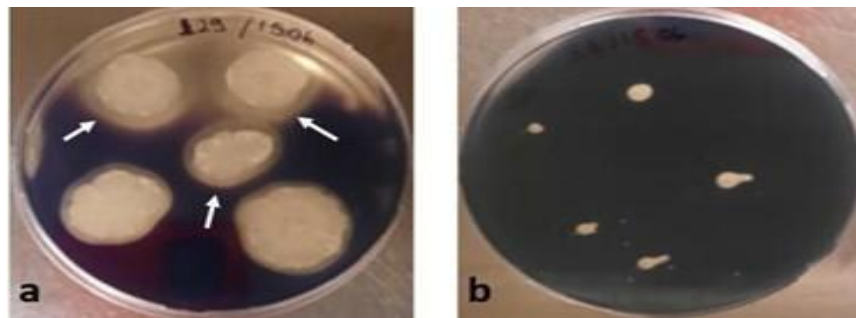


Şekil 3.12: Seçilen izolatlarla sitrat kullanım testi. Negatif kontrol : Bakteri ekimi yapılmayan. Pozitif kontrol : *Klebsiella pneumoniae*.

3.4.6.4. Nişasta Hidrolizi

Bu test bakteriler tarafından salgılanan amilaz ve oligo 1,6-glucosidaz enzimlerinin varlığını belirlemeye yarayan bir testtir [Lal ve Cheeptham, 2012].

Nişasta hidrolizi testi için %1 oranında çözünabilir Nişastalı Nutrient Agar kullanıldı. 18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürlerinden alınan tek koloniler steril iğne uçlu öze yardımı ile ekimi yapıldı. 37°C de 24 saat inkübasyon sonrasında Petrilere Gram İyodin çözeltisi üzeri tamamen solüsyon ile kaplandı. 30 sn sonra üzerindeki fazla solüsyon uzaklaştırıldı. Koloni etrafında berrak bir bölgenin görülmesi bakteriler tarafından üretilen amilaz enziminin varlığını gösterdiğinden test pozitif olarak değerlendirildi. Koloni etrafında berrak bir bölgenin olmaması nişastayı hidrolizinin olmadığından test negatif olarak değerlendirildi. Pozitif kontrol bakterisi olarak *Bacillus subtilis* ATCC 6633 kullanıldı (Şekil 3.13a),(Şekil 3.13b).



Şekil 3.13: a) TSR5B-129 izolatın Nişasta hidrolizi testi (+), b) TSR3A-34 izolata ait Nişasta hidrolizi testi (-).

3.4.7. Seçilen İzolatların *In vitro* Cross-streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Birbirleri ile uyumlu ve uygun izolatların seçimi için ideal bir yöntemdir ve mikrobiyal konsorsiyumların oluşturulmasında bu yöntem çok önemli rol oynamaktadır [Tabacchioni vd., 2021]. Bu aşamada en iyi 6 farklı bitki büyüme teşvik edici özelliklere sahip 6 izolat belirlendi. Seçilen bu izolatların karşılıklı uyumlarını değerlendirmek amacıyla, LB agar besiyerinde çapraz çizgi yöntemi kullanılarak ekimleri gerçekleştirildi ve kültürler 30 °C’de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda, izolatların karşılaştıkları bölgelerde birbirlerinin büyümesini inhibe edip etmedikleri gözlemlendi ve bu değerlendirme sonucunda *in vitro* koşullarda birbirleriyle uyumlu olan izolatlar tespit edildi. Uyumlu izolatlar kullanılarak farklı mikrobiyal konsorsiyum grupları oluşturuldu ve bu konsorsiyumların mikrobiyal gübre olarak uygulanmasının *Triticum durum* Desf. bitkisi üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik deneme aşamasına geçildi.

3.4.8. Kurulan Mikrobiyal Konsorsiyumların Buğday Bitkisinin Kısa Süreli Büyümesine Etkisi (6 Hafta)

3.4.8.1. Tohum Sterilizasyonu

Kışlık durum buğday çeşidi olan “Eminbey” durum buğdayı, Ankara’da bulunan Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü’nden temin edildi. Kışlık buğdayın sterilizasyonu için optimizasyon protokolü Koyuncu (2012)’e göre gerçekleştirildi. Bu protokolde, yüzey sterilizasyonu %70 (v/v) etanol (EtOH) kullanılarak 5 dakika boyunca çalkalandı, ardından steril dH₂O ile 3 kez durulandı, %5 (v/v) çamaşır suyu (Domestos™) ile 25 dakika boyunca dezenfeksiyon ve ardından steril dH₂O ile 7 kez durulandı. Steril tohumlar Petri kaplarında steril filtre kağıdı üzerine yerleştirildi, çimlenmeye yardımcı olmak için steril dH₂O püskürtüldü ve vernalizasyon için 5 gün boyunca karanlıkta +4 °C’de inkübe edildi.

3.4.8.2. Seçilen İzolatlar ile Farklı Mikrobiyal Konsorsiyumların Oluşturulması

Mikrobiyal konsorsiyum; siderofor üretimi, azot fiksasyonu, fosfat çözünürleştirme, HCN üretimi ve biyofilm oluşumu gibi Bitki büyüme teşvik edici özellikleri için oldukça etkili izolatların bir arada bulunarak bitki büyüme üzerindeki etkinliklerini belirlemek amacıyla oluşturuldu. Seçilen izolatlar LB sıvı besiyerinde 30 °C'de 24 saat inkübe edildi ve 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmı uzaklaştırılıp kalan hücre pelleti %0.85 (w/v) FTS ile vorteksenerek iyice yeniden süspanse edildi. Her bir izolat daha sonra 0.5 McFarland standardına (yaklaşık 10^8 CFU/mL) eşdeğer bir bulanıklığa ayarlandı. Buğday büyümesini teşvik etme kabiliyetlerini değerlendirmek için seçilen izolatlarla bir konsorsiyum oluşturuldu. Seçilen izolatlar LB besiyeri ile eşit oranlarda karıştırıldı ve aşağıdaki gibi bir konsorsiyum oluşturuldu: 2 adet izolat (İkili-İ) (5 ml LB besiyeri içerisine 1:1 oranında her bir izolattan 2.5 mL aşılama), 3 adet izolat (Üçlü-Ü) (7.5 mL LB besiyeri içerisine 1:1:1 oranında her suştan 2.5 mL aşılama), 4 adet izolat (Dörtlü-D) (10 mL LB içerisine 1:1:1:1 oranında her bir izolattan 2.5 mL aşılama) ve 5 adet izolat (Beşli-B) (12.5 mL LB besiyeri içerisine 1:1:1:1:1 oranında her bir izolattan 2.5 mL aşılama) ve buğday tohumlarına aşılama yapıldı ve büyümeleri gözlemlendi (Şekil 3.14),(Şekil 3.15).



Şekil 3.14: Buğday tohumlarına Mikrobiyal Konsorsiyum gruplarının aşılama evresi.



Şekil 3.15: 12 gün sonunda buğday bitkilerinin görünüşleri.

3.4.8.3. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumların Buğday Bitkisine İnokülasyonu

Kullanılan plastik saksıların çapı 9 cm olup, yüksekliği 12 cm'dir ve hacmi yaklaşık 500 mL'dir. Saksı toprakları Gebze Teknik Üniversitesi Kampüsü'nden alındı ve drenajı sağlamak için 1:1 oranında kum ile karıştırıldı. Karışım daha sonra homojenize edildi ve 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak steril edildi. Çimlenmeden sonra buğday fideleri toprağa aktarıldı ve tohum başına 10^8 CFU/mL bakteri içeren bir bakteri konsorsiyumundan 1 mL toprağa eklendi [Tsegaye vd., 2022]. Sera koşulları; aydınlık/karanlık (16/8 saat), %60 nem ve 22 °C olarak ayarlandı. İnoküle edilmemiş buğday bitkileri negatif kontrol grubu olarak değerlendirildi. Deneyde, toplam 21 grup ve saksı başına üç tohum olacak şekilde üç tekrarlı olarak yürütüldü.

3.4.8.4. Buğday Bitkisinin Büyüme Parametrelerinin Ölçülmesi

6 haftanın sonunda, saksılardaki her birinde bulunan 3 fide hasat edildi, kök ve sürgün uzunluğu, kök ve sürgün kuru ağırlığı, klorofil içerikleri değerlendirildi. Toplam kuru biyokütle için fideler 70°C'de 72 saat boyunca fırında kurutuldu. Klorofil ölçümleri SPAD-502 Plus (Konica Minolta Inc.) klorofil ölçer kullanılarak gerçekleştirildi.

3.4.9. Seçilen İzolatlar ile İki Farklı Konsorsiyum Grupları Oluşturulması

Buğday büyüme parametreleri sonucunda buğday bitkisinde en iyi büyüme etkisi gösteren izolatlar ile oluşturulan Konsorsiyum grubu ve daha önce laboratuvarımızın doku kültürü çalışmalarında alev ağacından izole edilen ve altkültürleme yapmaksızın konukçusunun ömrünü 16 aya kadar uzatan ve kültür kabında köklenmesine yardımcı olan PGB_invit bakterisi eklenerek oluşturulan ayrı bir konsorsiyum grubu daha oluşturularak iki konsorsiyum grubu oluşturuldu. Çalışma başlamadan 10 gün önce PGB_invit bakterisi MPYE besiyerinde 30°C de inkübe edildi.

18-24 saat inkübasyona bırakılan izolatların taze kültürleri ve 10 gün boyunca inkübasyona tabi tutulan PGB_invit bakterisi 4000 rpm’de 20 dakika boyunca santrifüjlendi, supernatant uzaklaştırılıp, pellet FTS (%0.85) ile vorteksenerek tamamen çözüldü. Her bir izolat 0.5 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) eşdeğer bulanıklığına ve PGB_invit bakterisi 0.6 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) eşdeğer bulanıklığına ayarlandı. Her bir izolat ve bu izolatlarla birlikte PGB_invit bakterisi bulunan iki grup, her birinden eşit hacimde (1:1) eklenerek iki konsorsiyum grubu oluşturuldu.

3.4.10. Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisinin *In vitro* Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Seçilen izolatlar ile PGB_invit bakterisinin birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi için MPYE (Mineral - Peptone - Yeast Extract)’nde Cross-Streak (Çapraz Çizgi) yöntemi kullanılarak belirlendi.

3.4.11. Seçilen İzolatlar ile Oluşturulan Konsorsiyum Gruplarının Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi

3.4.11.1. Azot Fiksasyonu

NfB besiyerinde, cam Pastör pipeti kullanılarak agar üzerinde kuyucuklar açıldı ve her bir kuyucuğa konsorsiyum gruplarından 100 µl eklendi. Konsorsiyum gruplarının azot fiksasyon yetenekleri, Bölüm 3.2.4’te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlendi.

3.4.11.2. Siderofor Üretimi

CAS Blue agar besiyerinde, cam Pastör pipeti kullanılarak agar üzerinde kuyucuklar açıldı ve her bir kuyucuğa konsorsiyum gruplarından 100 µl eklendi. Konsorsiyum gruplarının Siderofor yetenekleri, Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlendi.

3.4.11.3. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)

Pikovskaya agar besiyerinde, cam Pastör pipeti kullanılarak agar üzerinde kuyucuklar açıldı ve her bir kuyucuğa konsorsiyum gruplarından 100 µl eklendi. Konsorsiyum gruplarının Fosfat çözebilme yetenekleri, Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlenmiştir.

3.4.11.4. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kantitatif)

Konsorsiyum gruplarının inorganik fosfatı çözünebilir duruma getirebilme yetenekleri Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlendi.

3.4.11.5. İndol Asetik Asit Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)

Konsorsiyum gruplarının IAA üretme yetenekleri Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlendi.

3.4.11.6. Biyofilm Üretimi

Konsorsiyum gruplarının Biyofilm üretme yetenekleri Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlenmiştir.

3.4.11.7. Amonyum Üretimi

Konsorsiyum gruplarının Amonyum üretme yetenekleri Bölüm 3.2.4'te belirtilen yöntem doğrultusunda belirlendi.

3.4.12. Buğday Bitkisinin Uzun Süreli Araştırılması (20 hafta)

3.4.12.1 Deney Kurulumu

Saksı toprakları Gebze Teknik Üniversitesi kampüsünün arazisinden temin edildi ve homojenliği sağlamak için 1:1 oranında kum ile karıştırıldı. Hazırlanan karışım Kocaeli İl Tarım Müdürlüğü tarafından hizmet alımı yoluyla analiz edildi. Karışım daha sonra 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak steril edildi.

Toprak analiz sonucuna göre Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından yayınlanan Gübre Tavsiyeleri kitapçığına göre eklenmesi gereken gübreler ve miktarları hesaplandı ve Saksı deney planlamaları kısmına geçildi.

3.4.12.2. Tohum Sterilizasyonu

Buğday tohumlarının sterilizasyonu Bölüm 3.4.8'te belirtilen yöntemle yapıldı (Şekil 3.16).



Şekil 3.16: Buğday tohumlarının sterilizasyonu ve vernalizasyon işlemi.

3.4.12.3. Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisi ile Mikrobiyal Konsorsiyumun Oluşturulması

Mikrobiyal konsorsiyumun oluşturulmasından 10 gün önce, PGB_invit bakterileri - 80°C'deki stoklardan çıkarılmış ve MPYE sıvı besiyerinde 30°C'de inkübe edildi. Ardından, üç izolat LB sıvı besiyerinde 30°C'de 24 saat boyunca inkübe edildi, ve dört bakteri 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu. Süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı ve elde edilen hücre peleti %0.85 (w/v) Fizyolojik Tuzlu Su

(FTS) çözeltisi içinde vortekslenerek iyice yeniden süspanse edildi. Üç izolat 0.5 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) eşdeğer bir bulanıklığa ayarlanırken, PGB_invit 0.6 McFarland ($\sim 10^8$ CFU/mL) eşdeğer bir bulanıklığa ayarlandı (Şekil 3.17). Her bir izolat eşit hacimlerde (1:1:1:1) eklenerek mikrobiyal konsorsiyum oluşturuldu.



Şekil 3.17: İzolatların 0.5 McFarland standardına göre yaklaşık 10^8 CFU/mL yoğunlukta hazırlanması.

3.4.12.4. Deney Tasarımı

Saksı deneyleri iki faktörlü (azot yüzdesi ve mikrobiyal konsorsiyum uygulaması) ve üç tekrarlı olarak yürütüldü. Deneyler 21 x 30 cm ölçülerinde ve 12 litre hacmindeki saksılarda gerçekleştirildi. Üç farklı şekilde deney planı tasarlandı; 1) Azot oranları üç farklı dozlarda (önerilen gübreleme dozun %50'si, %75'i ve %100'ü) uygulaması mikrobiyal konsorsiyum birlikte; 2) Mikrobiyal konsorsiyum uygulaması içermeyen Önerilen Azotlu gübrelemenin 3 farklı doz uygulaması; 3) Önerilen dozun (%100) uygulaması birlikte Mikrobiyal konsorsiyum üyelerinin tekli uygulamaları.

Her saksıya yedi tohum ekildi; 2 yapraklı kotiledonların oluşumundan sonra fide sayısı beşe düşürüldü. Hazırlanan Mikrobiyal konsorsiyum bitkilerin fide aşamasında, tohum başına 1mL ($\sim 10^8$ CFU/mL) toprağa, kardeşlenme döneminde bitki başına 1mL ($\sim 10^8$ CFU/mL) hem yapraktan spreyleme yoluyla hem de bitki başına 1mL ($\sim 10^8$ CFU/mL) topraktan eklendi ve sapa kalkma döneminde de bitki başına 1mL ($\sim 10^8$ CFU/mL) topraktan verildi (Şekil 3.18),(Şekil 3.19),(Şekil 3.20). Mikrobiyal konsorsiyumun bitkilere verilmesiyle eş zamanlı olarak Amonyum nitrat (%33) gübresi eklendi ayrıca Potasyum sülfat gübresi eklendi. Potasyum sülfat (%100) gübresinin ilk aşaması

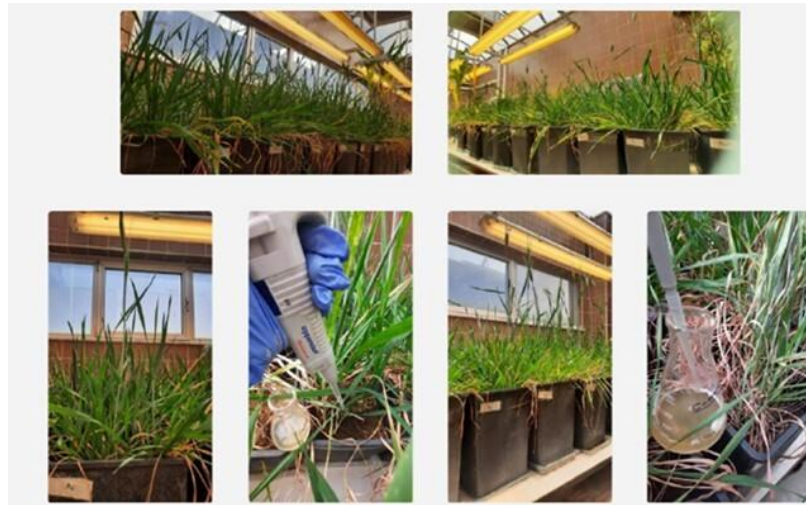
tohum ekiminde, ikinci aşaması ise sapa kalkma döneminde verilerek iki kez uygulandı. Buğdaylar ekim zamanından 150 gün sonra hasat edildi (Şekil 3.21).



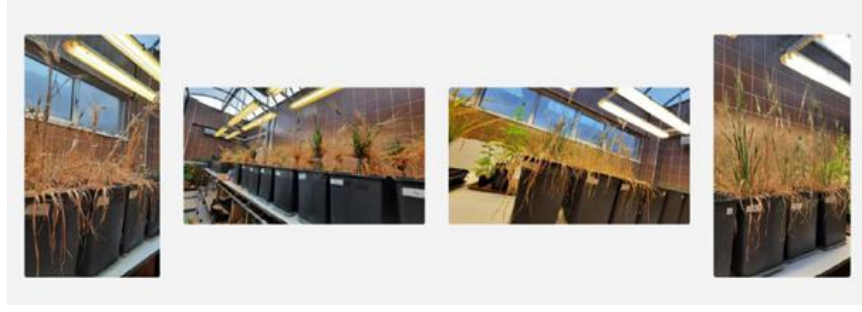
Şekil 3.18: Buğdayların saksılara ekim aşaması ve Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.



Şekil 3.19: Kardeşlenme döneminde kökten ve spreyleme yoluyla yapraktan Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.



Şekil 3.20: Sapa kalkma dönemi hemen öncesinde Mikrobiyal gübre uygulama aşaması.



Şekil 3.21: 150 gün sonunda hasat dönemi.

3.4.13. Verim ve Kalite Parametreleri

3.4.13.1. Verim Parametreleri

3.4.13.1.1. Bitki Boyu

Hasat öncesinde her bir grupta bulunan bitkilerin Toprak yüzeyi ile en uzun kardeş başağının arasındaki uzunluk (Kılıçık uzunluğu hariç) ölçüldü ve değerlendirildi.

3.4.13.1.2. Bayrak Yaprak Alanı

Bayrak yaprağı en ve boy uzunlukları ölçülerek Fowler ve Rasmusson, (1969) yöntemine göre $\text{boy} \times \text{en} \times 0.68$ denklemi kullanılarak elde edildi ve değerlendirildi.

3.4.13.1.3. Başakta Başakçık Sayısı

Her bir deneme grubunda başakta bulunan başakçık sayısı belirlendi ve değerlendirildi.

3.4.13.1.4. Başak Sayısı

Her bir deneme grubunda bulunan başak sayısı belirlendi ve değerlendirildi.

3.4.13.1.5. Başak Boyu

Her bir deneme grubunda bulunan başakların boy uzunlukları ölçüldü ve değerlendirildi.

3.4.13.1.6. Başakta Dane Sayısı

Her bir deneme grubunda bulunan başaklarda dane sayısı belirlendi ve değerlendirildi.

3.4.13.1.7. Başak Başına Dane Verimi

Her bir deneme grubunda bulunan toplam dane ağırlığının başak sayısına oranına göre belirlendi ve değerlendirildi.

3.4.13.8. Kalite Parametreleri

3.4.13.8.1. Bin Dane Ağırlığı, Nem Miktarı, Dane Boyutu ve Sertlik Değeri

Buğdayların bin dane ağırlığı, nem miktarı, dane boyutu ve sertlik değeri Tek Dane Karakterizasyon Sistemi (Single Kernel Characterization System) (SKCS 4100, Perten Instruments, Stockholm, İsveç) kullanılarak Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından hizmet alımı kapsamında tespit edildi (Şekil 3.22a).

3.4.13.8.1.1. Hektolitre Ağırlığı

Hektolitre ağırlığını belirlemek için 1 g/mL ağırlığı hesaplanıp, bu değer 100 ile çarpılması ile hektolitre ağırlığı belirlendi.

3.4.13.8.1.2. Renk Değeri (L^* , a^* , b^*)

Buğday danelerinin parlaklığı, kırmızılığı ve sarılığı Gardner MiniScan XE Plus (Hunter Lab, Reston, ABD) kullanılarak Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından hizmet alımı kapsamında gerçekleştirilmiş analizlerin tamamlanmasıyla elde edilmiştir (Şekil 3.22b).



Şekil 3.22: a) Tek Dane Karakterizasyon Sistemi (Single Kernel Characterization System), b) Renk ölçüm cihazı (Gardner MiniScan XE Plus).

3.4.13.1.3. Protein Oranı Tayini (%km)

Danenin protein içeriğinin belirlenebilmesi için buğday danelerinin, Su Soğutmalı Değirmende (FOSS-KN 295 KNIFETECH) 5 defa 10 hızında öğütüldü. Öğütülen numunelerin protein tayinleri, Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü tarafından hizmet alımı kapsamında, Dumas yöntemi ile çalışan Azot tayin cihazı (LECO FP-828 Karbon-Hidrojen-Azot Analiz Cihazı) ile belirlendi. Daha sonra Nx5.7 protein çevirme faktörü kullanılarak miktarları hesaplandı ve sonuçlar kuru madde üzerinden % olarak verildi (Şekil 3.23).



Şekil 3.23: Buğday danelerinin öğütme işlemi.

3.4.14. İstatistiksel Analiz

Tüm sonuçlar en az üç bağımsız tekrarın ortalaması olarak elde edildi ve her koşulda ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak ifade edildi. Sonuçları değerlendirmek için istatistiksel varyans analizi (ANOVA) ve en küçük anlamlı fark (LSD) testi kullanıldı ve anlamlılık düzeyi $P \leq 0.05$ olarak alındı.

4. BULGULAR

4.1. Toprak Örneklerinin Alınması

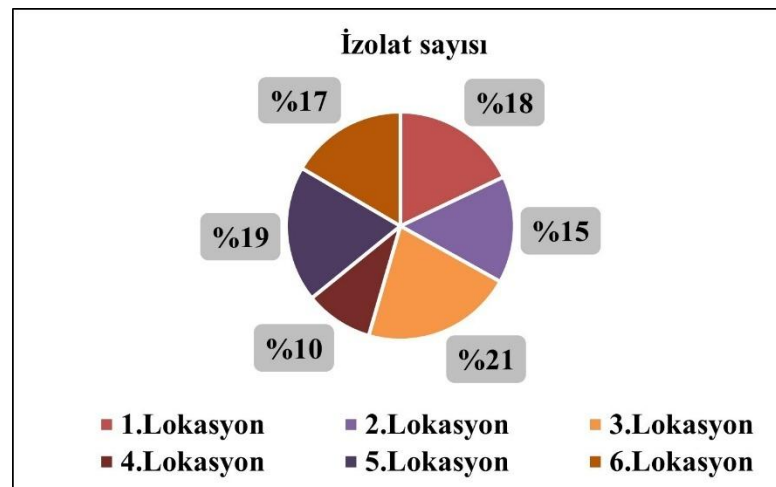
Bitki büyümesini teşvik edici rizobakterilerin izole edilmesi amacıyla alınan Toprak örnekleri Tekirdağ Süleymanpaşa ilçesindeki Hububat ekim alanlarından alındı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Tekirdağ ili Süleymanpaşa ilçesindeki rizosferik toprak örneklerinin alındığı izolasyon noktaları.

Kod numarası	Enlem/Boylam	Lokasyon (Köy/Mevki)
1	40°57'20.2"N / 27°26' 29.2"E	Yağcı / Koşuyolu
2	40°97'76"N / 27°30'45"E	Yağcı / Deve Sekili
3	40°97'76"N / 27°30'45"E	Yağcı / Karaevli
4	41°03'90"N / 27°39'10"E	Osmanlı /Bağyerleri
5	41°03'90"N / 27°39'10"E	Banarlı / Hıyarlık
6	41°03'24"N / 27°63'38"E	Gazioğlu

4.2. Topraktan Bakteri İzolasyonu

6 farklı izolasyonu noktalarından toplamda 145 izolat elde edildi. İzolatların Lokasyonlara göre dağılımları Şekil 4.1’de gösterilmiş olup, koloni morfolojileri ise; EK A’ da sunulmuştur.



Şekil 4.1: İzolatların Lokasyonlara göre dağılımı.

4.3. İzolatların Morfolojik ve Biyokimyasal Ön Tanımlama Test Sonuçları

İzole edilen 145 izolatın Ön Tanımlama Test sonuçları **EK B1** ve **EK B2**'de sunulmuştur. Ön Tanımlama Testlerinden biri olan Gram Boyama sonuçlarına bakıldığında 55 adet Gram Negatif, 90 adet Gram pozitif bakteri, Spor boyama sonuçlarında basil formda olanlar içerisinde 50 adet sporlu bakteri tespit edildi. Katalaz testi sonucunda 126 adet izolatta farklı seviyelerde Katalaz pozitif olduğu, 19 adet izolatta ise Katalaz negatif olduğu tespit edildi. Oksidaz testi sonucunda ise, 46 adet pozitif, 99 adet negatif olarak gözlemlendi. Çalışmamızın amacına uygun olarak 145 izolat içerisinde Ön tanımlama test sonuçlarına göre 41 adet Gram pozitif, basil, sporlu, katalaz pozitif, oksidaz pozitif/negatif olan izolatlar ve Gram negatif izolatlar arasında ise, azot fikse etme yeteneğine sahip spesifik türleri belirlemek amacıyla bu grup izolatlar doğrudan azot fiksasyonu taraması yapıldığında 7 adet Gram negatif Azot Fikse etme yeteneğine sahip izolat belirlendi ve çalışmamızın ilk kısmı tamamlanarak bundan sonraki çalışmalara 48 adet izolat ile devam edildi.

4.4. İzolatların Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Araştırılmasına Yönelik Testlerin Sonuçları

4.4.1. Azot Fiksasyonu

İzolatların azot fiksasyon yetenekleri, azot içermeyen ve pH değişimlerine duyarlı bromtimol mavisi indikatör boyası içeren Nfb besiyerinde 7 gün süreyle inkübe edilerek, azot fiksasyonu sonucu ortamın pH değişimi ile besiyerinin sarımsı-yeşil renkten mavi renge dönüşümü gözlemlendi ve izolatların azot fiksasyon kapasiteleri pozitif kontrol bakterisi ile karşılaştırılarak derecelendirildi (Şekil 4.2). 48 adet izolat içerisinde 1 adet Çok iyi, 1 adet orta, 13 adet az olmak üzere farklı düzeylerde Azot fiksasyon yeteneğine sahip izolatlar belirlendi (Tablo 4.2).

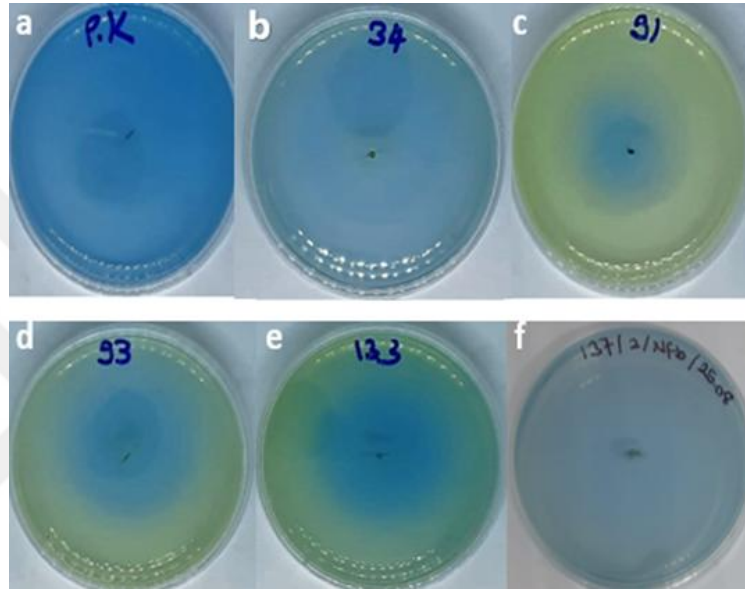
Tablo 4.2: İzolatların Azot fiksasyon yeteneklerinin sonuçları.

İzolat no	İzolat kodu	Azot Fiksasyonu	Derecelendirme
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	+++	Çok iyi
4	TSR1A-4	-	-
7	TSR1A-7	-	-
13	TSR1A-13	+	Az
15	TSR1A-15	-	-
17	TSR2A-17	-	-
21	TSR2A-21	-	-
26	TSR3A-26	-	-
29	TSR3A-29	-	-
34	TSR3A-34	+++	Çok iyi
36	TSR3A-36	-	-
37	TSR3A-37	-	-
51	TSR4A-51	-	-
53	TSR4A-53	-	-
56	TSR5A-56	-	-
58	TSR5A-58	-	-
70	TSR5A-70	-	-
71	TSR5A-71	-	-
74	TSR6A-74	-	-
75	TSR6A-75	-	-
78	TSR6A-78	-	-
79	TSR6A-79	-	-
90	TSR2B-90	-	-
91	TSR1B-91	+	Az
93	TSR2B-93	+	Az
94	TSR2B-94	-	-
96	TSR2B-96	-	-
97	TSR2B-97	+	Az
101	TSR2B-101	-	-
105	TSR3B-105	+	
106	TSR3B-106	+	Az
112	TSR3B-112	-	-
117	TSR4B-117	-	-
118	TSR4B-118	+	Az
119	TSR4B-119	-	-
123	TSR5B-123	+	Az
124	TSR5B-124	+	Az
125	TSR5B-125	-	-
129	TSR5B-129	-	-
130	TSR5B-130	+	Az
131	TSR5B-131	++	Orta
132	TSR5B-132	+	Az
133	TSR6B-133	+	Az

Tablo 4.2 : Devam.

135	TSR6B-135	-	-
137	TSR6B-137	+	Az
140	TSR6B-140	+	Az
141	TSR6B-141	-	-
144	TSR6B-144	-	-
145	TSR6B-145	-	-

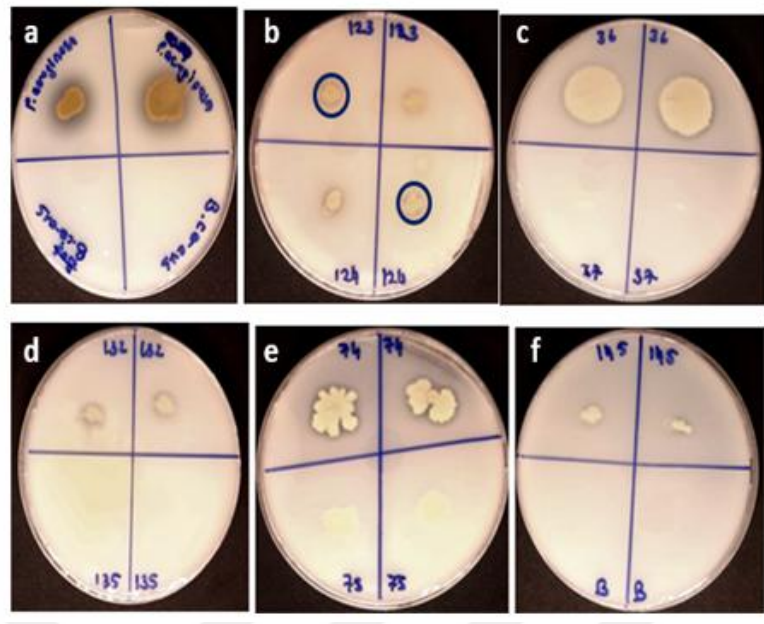
*Tablodaki işaretler, izolatların azot fiksasyon düzeylerini göstermektedir. “+++” çok iyi, “++” orta, “+” Az azot fiksasyon kapasitesini; “-” ise fiksasyon yapamayan izolatları ifade etmektedir.



Şekil 4.2: Bazı izolatların farklı seviyelerde Nfb besiyerinde Azot Fiksasyon yeteneklerinin görünüşleri. P.K: Pozitif kontrol (*P.aeruginosa* ATCC 15692).

4.4.2. İnorganik Fosfatı Çözebilme (Kalitatif)

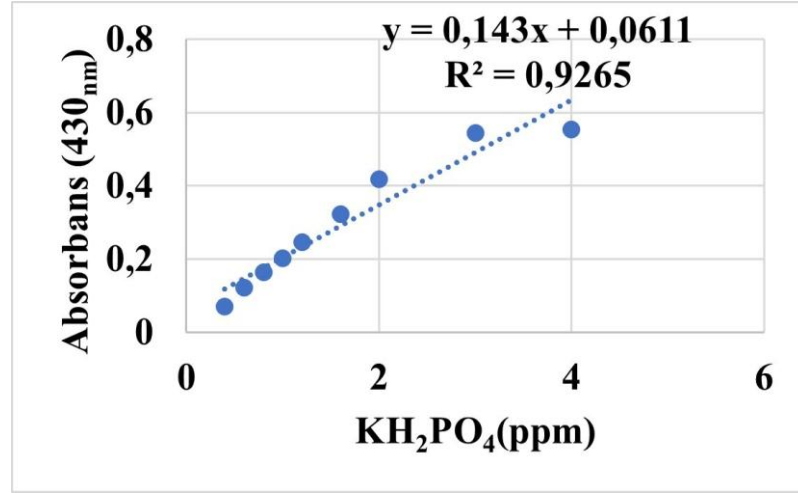
İzolatların inorganik fosfat çözme potansiyelleri, Pikovskaya agar besiyerine yapılan nokta ekimler sonrasında değerlendirildi (Şekil 4.3). Ekimler sonucunda koloni etrafında meydana gelen şeffaf zonlar ölçülerek Fosfat Çözünabilirlik İndeksi hesaplandı. 48 izolat arasında 32’sinde belirgin bir zon oluşumu gözlemlenirken, 16 izolatın etrafında ise zon oluşumu tespit edilmedi (Tablo 4.5).



Şekil 4.3: Bazı izolatların Pikovskaya agar besiyerinde koloni etrafında oluşturdukları şeffaf zon görünüşleri.

4.4.3. İnorganik Fosfatı Çözebیلme (Kantitatif)

İzolatların Pikovskaya agar besiyerindeki fosfat çözme indeks değeri, pozitif kontrol bakterisinin fosfat çözme indeksini aşan izolatlar için vanado-molibdo fosforik asit yöntemi kullanılarak belirlendi. Bu izolatların fosfat çözme kapasiteleri, kantitatif olarak tespit edildi (Tablo 4.3). Veri analizlerinde, TSR3B-106'nın diğer izolatlarla karşılaştırıldığında daha yüksek miktarda inorganik fosfat çözme kapasitesine sahip olduğu görüldü. Bu gözlemlenen fark, istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p < 0.05$). Elde edilen absorbans değeri, çözünen fosfat konsantrasyonlarını belirlemek amacıyla standart eğri kullanılarak hesaplandı (Şekil 4.4).



Şekil 4.4: KH₂PO₄ ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerle standart eğri grafiği.

Tablo 4.3: İzolatların İnorganik fosfat çözünürlük indeksi ve fosfat çözebilme miktarları.

İzolat numarası	İzolat kodu	Fosfat çözünürlük indeksi(cm)	Fosfat çözebilme miktarı(ppm)
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	2.3	5.052±0.96 ^d
4	TSR1A-4	2.1	-
7	TSR1A-7	2.1	-
13	TSR1A-13	-	-
15	TSR1A-15	-	-
17	TSR2A-17	2.1	-
21	TSR2A-21	1.1	-
26	TSR3A-26	2.2	-
29	TSR3A-29	2.2	-
34	TSR3A-34	-	-
36	TSR3A-36	2.2	-
37	TSR3A-37	-	-
51	TSR4A-51	2.2	-
53	TSR4A-53	2.1	-
56	TSR5A-56	2.2	-
58	TSR5A-58	2.1	-
70	TSR5A-70	-	-
71	TSR5A-71	-	-
74	TSR6A-74	2.5	-
75	TSR6A-75	2.1	-
78	TSR6A-78	2.2	-
79	TSR6A-79	2.1	-
90	TSR2B-90	2.2	-
91	TSR1B-91	-	-
93	TSR2B-93	-	-

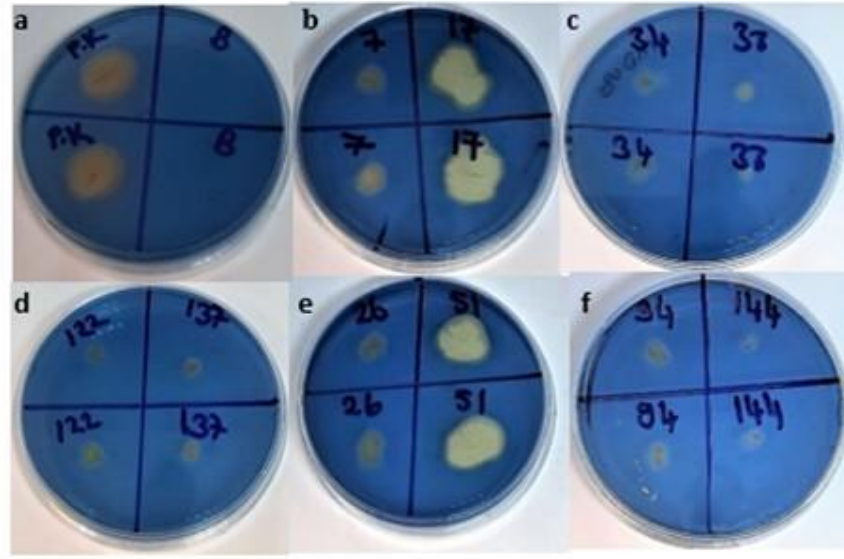
Tablo 4.3: Devamı.

94	TSR2B-94	-	-
96	TSR2B-96	2.2	-
97	TSR2B-97	-	-
101	TSR2B-101	-	-
105	TSR3B-105	2.5	13.96±0.64^b
106	TSR3B-106	2.8	27.54±0.00^a
112	TSR3B-112	2.0	-
117	TSR4B-117	2.5	4.26±0.49^d
118	TSR4B-118	2.2	-
119	TSR4B-119	2.1	-
123	TSR5B-123	2.2	-
124	TSR5B-124	2.2	-
125	TSR5B-125	-	-
129	TSR5B-129	-	-
130	TSR5B-130	2.2	-
131	TSR5B-131	2.0	-
132	TSR5B-132	2.6	2.77±0.63^e
133	TSR6B-133	2.4	6.92±0.49^c
135	TSR6B-135	-	-
137	TSR6B-137	2.2	-
140	TSR6B-140	2.5	4.41±0.00^d
141	TSR6B-141	-	-
144	TSR6B-144	-	-
145	TSR6B-145	2.5	8.31±0.36^c

*Tablodaki veriler, ortalama değerleri göstermekte olup, “±” standart hatayı temsil etmektedir. Ayrıca harflendirmeler, veriler arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu ifade etmektedir.

4.4.4. Siderofor Üretimi (Kalitatif)

İzolatların Cas Blue Agar besiyerinde nokta ekim yapılarak ekimi yapılarak koloni etrafında sarı-turuncu halo zon oluşturmaları siderofor üretimlerinin kalitatif olarak göstergesidir. İzolatların Siderofor İndeks değerleri **Tablo 4.7’** te gösterilmiş olup aynı zamanda Cas Blue agar besiyerindeki siderofor üretim zon görünümleri belirlendi (Şekil 4.5). Siderofor indeks değerleri içerisinde Pozitif kontrol bakterisin Siderofor indeks değerleri ve st değerlerdeki 15 izolat, izolatlar içerisinde en iyi Siderofor reticisi olarak değerlendirildi.



Şekil 4.5: Bazı izolatların Cas Blue Agar besiyerinde ürettikleri sideroforların görünümleri. P.K. : *P.aeruginosa* ATCC 15692, B: Bakteri ekimi yapılmayan kısım.

4.4.5. Siderofor Üretimi (Kantitatif)

İzolatların Siderofor üretim yüzdeleri (%), Siderofor indeks değerleri Pozitif kontrol bakterisine göre üst değerdeki 15 izolat için hesaplandı. Siderofor üretim yüzdeleri (%) 48.46 –83.46 aralığında değişiklik gösterdiği görülmüştür. Toplam 15 izolat arasında, 10 izolatın siderofor üretim düzeylerinin pozitif kontrol bakterisine yakın olduğu belirlenmiştir. TSR5B-131 kodlu izolatın, pozitif kontrolden daha yüksek düzeyde siderofor ürettiği; buna karşılık 4 izolatın ise daha düşük üretim gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Bu nicel veriler, kalitatif yöntemle elde edilen sonuçlarla uyum göstermektedir. Siderofor Üretim Yüzdeleri (%) **Tablo 4.4**'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4: İzolatların Siderofor indeks değerleri ve Üretim yüzdeleri (%).

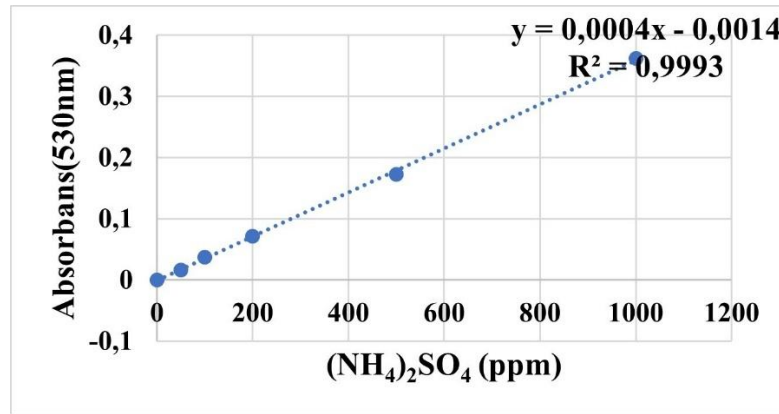
İzolat numarası	İzolat kodu	Siderofor indeksi (cm)	Siderofor üretimi(%)
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	2.3	72.83
4	TSR1A-4	2.4	62.78
7	TSR1A-7	2.1	-
13	TSR1A-13	-	-
15	TSR1A-15	2.0	-
17	TSR2A-17	-	-
21	TSR2A-21	2.1	-
26	TSR3A-26	2.1	-
29	TSR3A-29	2.1	-
34	TSR3A-34	2.0	-
36	TSR3A-36	2.1	-
37	TSR3A-37	2.0	-
51	TSR4A-51	2.4	67.72
53	TSR4A-53	2.3	60.53
56	TSR5A-56	2.2	-
58	TSR5A-58	2.4	56.58
70	TSR5A-70	2.3	64.70
71	TSR5A-71	2.2	-
74	TSR6A-74	2.2	-
75	TSR6A-75	2.2	-
78	TSR6A-78	2.2	-
79	TSR6A-79	2.0	-
90	TSR2B-90	2.0	-
91	TSR1B-91	2.2	-
93	TSR2B-93	2.0	-
94	TSR2B-94	2.0	-
96	TSR2B-96	-	-
97	TSR2B-97	2.1	-
101	TSR2B-101	2.4	69.88
105	TSR3B-105	2.5	65.79
106	TSR3B-106	2.4	48.46
112	TSR3B-112	2.2	-
117	TSR4B-117	2.5	60.29
118	TSR4B-118	2.2	-
119	TSR4B-119	2.2	-
123	TSR5B-123	2.0	-
124	TSR5B-124	2.0	-
125	TSR5B-125	2.1	-
129	TSR5B-129	2.3	-
130	TSR5B-130	2.4	54.67
131	TSR5B-131	2.9	83.46

Tablo 4.4: Devam.

132	TSR5B-132	2.4	67.96
133	TSR6B-133	2.5	61.04
135	TSR6B-135	2.2	-
137	TSR6B-137	2.0	-
140	TSR6B-140	2.2	-
141	TSR6B-141	2.4	63.54
144	TSR6B-144	2.3	48.79
145	TSR6B-145	2.0	-

4.4.6. Amonyum Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)

İzolatların Amonyum üretme yetenekleri Cappuccino ve Sherman 'ın (2002) yöntemi kullanılarak yapılan testlerde, 72 saatin sonunda besiyerindeki sarıdan kahverengiye renk değişiminin amonyum üretiminin varlığı belirlendi, ayrıca izolatların Amonyum üretim miktarları optik yoğunlukta 530nm'de (OD_{530}) ölçüldü, Amonyum sülfat $((NH_4)_2SO_4)$ ile oluşturulan Standart kalibrasyon eğrisi ile üretim miktarları (ppm) belirlendi (Şekil 4.6). 48 izolat içerisinde **46** izolatın farklı miktarlarda Amonyum ürettiği, **2** izolatın ise Amonyum üretmediği belirlenmiştir. Ayrıca Pozitif kontrol bakterisinin ürettiği miktarların üzerinde Amonyum üreten **4 izolat** tespit edilmiş olup, bu izolatlar içerisinde **TSR4B-118**, **TSR1B-91** ve **TSR6B-145** kodlu izolatların Pozitif kontrol bakterisine göre daha fazla üretirken, **TSR3A-34** kodlu izolatın ise, Pozitif kontrol bakterisinden daha fazla miktarda Amonyum ürettiği tespit edilmiştir. Amonyum üretim miktarları **Tablo 4.5** 'te gösterilmiştir.



Şekil 4.6: Üretilen Amonyum miktarının belirlenebilmesi için kullanılan standart eğri.

Tablo 4.5: İzolatların Amonyum üretim miktarları.

İzolat numarası	İzolat kodu	Amonyum üretimi (ppm)	İzolat numarası	İzolat kodu	Amonyum üretimi (ppm)
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	2471.5	94	TSR2B-94	2236.5
4	TSR1A-4	1449	96	TSR2B-96	2111.5
7	TSR1A-7	704	97	TSR2B-97	996.5
13	TSR1A-13	931.5	101	TSR2B-101	919
15	TSR1A-15	1249	105	TSR3B-105	566.5
17	TSR2A-17	-	106	TSR3B-106	904
21	TSR2A-21	699	112	TSR3B-112	366.5
26	TSR3A-26	426.5	117	TSR4B-117	1294
29	TSR3A-29	729	118	TSR4B-118	2791.5
34	TSR3A-34	4009	119	TSR4B-119	429
36	TSR3A-36	-	123	TSR5B-123	431.5
37	TSR3A-37	1604	124	TSR5B-124	474
51	TSR4A-51	1026.5	125	TSR5B-125	184
53	TSR4A-53	604	129	TSR5B-129	199
56	TSR5A-56	2069	130	TSR5B-130	856.5
58	TSR5A-58	544	131	TSR5B-131	456.5
70	TSR5A-70	1526.5	132	TSR5B-132	1331.5
71	TSR5A-71	1049	133	TSR6B-133	996.5
74	TSR6A-74	1466.5	135	TSR6B-135	516.5
75	TSR6A-75	854	137	TSR6B-137	1034
78	TSR6A-78	147.5	140	TSR6B-140	1796.5
79	TSR6A-79	1094	141	TSR6B-141	2209
90	TSR2B-90	969	144	TSR6B-144	1294
91	TSR1B-91	2796.5	145	TSR6B-145	2791.5
93	TSR2B-93	1721.5			

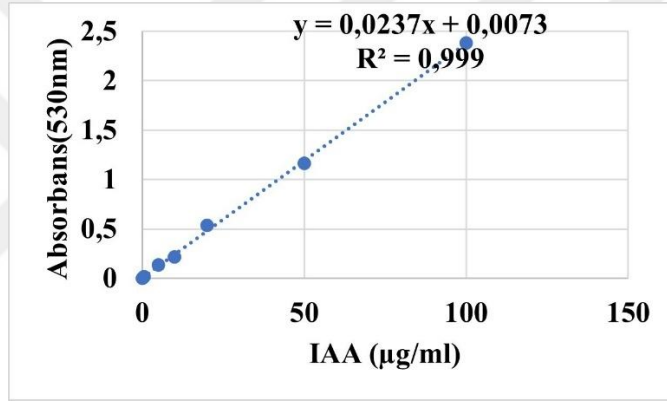
4.4.7. IAA Üretimi (Kalitatif ve Kantitatif)

İzolatların İndol asetik asit üretme yetenekleri Gordon ve Weber, (1951)'in yöntemi kullanılarak belirlendi. 48 saatin sonunda kolorimetrik yöntem olan Salkowski ayırıcı eklenerek rengin pembe renge dönüşümü ile İndol asetik asit varlığı tespit edildi (Şekil 4.7). Ayrıca izolatların İndol asetik asit üretim miktarları spektrofotometrik yöntem ile Optik yoğunluk 530nm'de (OD₅₃₀) ölçüldü ve İndol asetik asit ile oluşturulan Standart eğri grafiği kullanılarak izolatların üretim miktarları ul/ml olarak belirlendi (Şekil 4.8). 48 izolatın farklı miktarlarda IAA ürettiği tespit edilmiş olup, Pozitif kontrol grubunda 10.0 ul/ml IAA üretimi görülmüşken, bu değer üzerinde 19 izolat tespit edilmiştir. Bu izolatlar içerisinde en iyi IAA üretiminin TSR4A-51 ile 25.2 ul/ml olarak

belirlenmiştir. Ayrıca izolatların IAA üretim miktarsal sonuçları **Tablo 4.6.**'da gösterilmiştir.



Şekil 4.7: Bazı izolatların kolorimetrik metod ile İndol asetik asit üretimi. B: Negatif kontrol, EC: *E.coli* K12, PA : *P.aeruginosa* ATCC15692.



Şekil 4.8: Üretilen IAA miktarının belirlenebilmesi için kullanılan standart eğri.

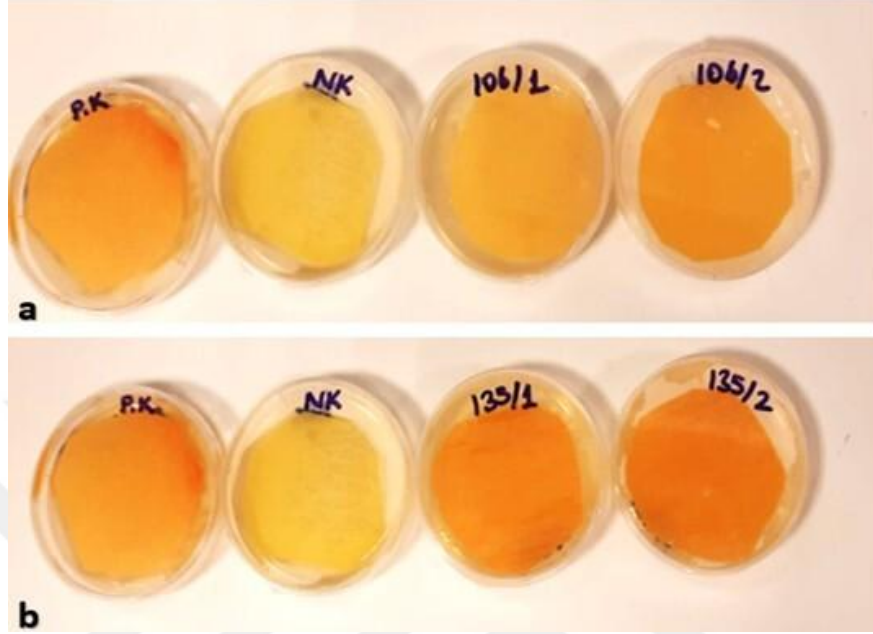
Tablo 4.6: İzolatların İndol asetik asit üretimlerinin sonuçları($\mu\text{g/mL}$).

İzolat numarası	İzolat kodu	IAA miktarı ($\mu\text{g/mL}$)	İzolat numarası	İzolat kodu	IAA miktarı ($\mu\text{g/mL}$)
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	10.0	94	TSR2B-94	1.15
Pozitif kontrol	<i>E.coli K 12</i>	13.23	96	TSR2B-96	4.75
4	TSR1A-4	16.9	97	TSR2B-97	11.0
7	TSR1A-7	14.4	101	TSR2B-101	5.17
13	TSR1A-13	3.48	105	TSR3B-105	3.06
15	TSR1A-15	4.33	106	TSR3B-106	1.80
17	TSR2A-17	19.5	112	TSR3B-112	5.17
21	TSR2A-21	12.7	117	TSR4B-117	9.81
26	TSR3A-26	16.1	118	TSR4B-118	9.94
29	TSR3A-29	12.7	119	TSR4B-119	10.1
34	TSR3A-34	9.22	123	TSR5B-123	10.1
36	TSR3A-36	3.91	124	TSR5B-124	9.90
37	TSR3A-37	15.3	125	TSR5B-125	10.8
51	TSR4A-51	25.2	129	TSR5B-129	9.43
53	TSR4A-53	14.1	130	TSR5B-130	12.1
56	TSR5A-56	15.7	131	TSR5B-131	10.4
58	TSR5A-58	7.70	132	TSR5B-132	9.52
70	TSR5A-70	4.75	133	TSR6B-133	1.30
71	TSR5A-71	10.4	135	TSR6B-135	7.20
74	TSR6A-74	9.81	137	TSR6B-137	2.22
75	TSR6A-75	16.1	140	TSR6B-140	2.64
78	TSR6A-78	8.90	141	TSR6B-141	6.09
79	TSR6A-79	14.0	144	TSR6B-144	4.03
90	TSR2B-90	6.86	145	TSR6B-145	5.38
91	TSR2B-91	1.80			
93	TSR2B-93	12.4			

4.4.8. HCN Üretimi (Kalitatif)

İzolatların HCN üretimini belirlemek amacıyla HCN üretiminin öncüsü olan aminoasitlerden biri olan Glisin eklenerek yapılan LB agar besiyerine ekimi yapılan izolatların, Petri kapağının iç kısmına Pikrik asit solüsyonu emdirilen filtre kağıtlarının eklenmesiyle kağıtlarda meydana gelen turuncu renk oluşumunun görülmesi, izolatların HCN üreticisi olduğunu göstermektedir. İzolatların bahsedilen şekilde yapılan ekimler sonucunda 48 izolat içerisinde en güçlü HCN üretimi gösteren TSR6B-135'in, orta düzeyde HCN üretimi gösteren 2 izolatta (TSR2B-94 ve TSR3B-

106) gözlemlendi (Şekil 4.9). 45 izolatın ise, HCN üretimi göstermediği gözlemlendi. HCN üretiminin sonuçları **Tablo 4.7**'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9: İzolatların HCN üretimlerinin koloritmerik olarak gösterimi. a) İzolat TSR3B- 106'nın orta düzeyde (++) HCN üretimi, b) İzolat TSR6B-135'in güçlü (+++) HCN üretimi. PK: Pozitif kontrol (*P.aeruginosa* ATCC 15692), NK: Negatif kontrol (Bakteri ekimi yapılmayan).

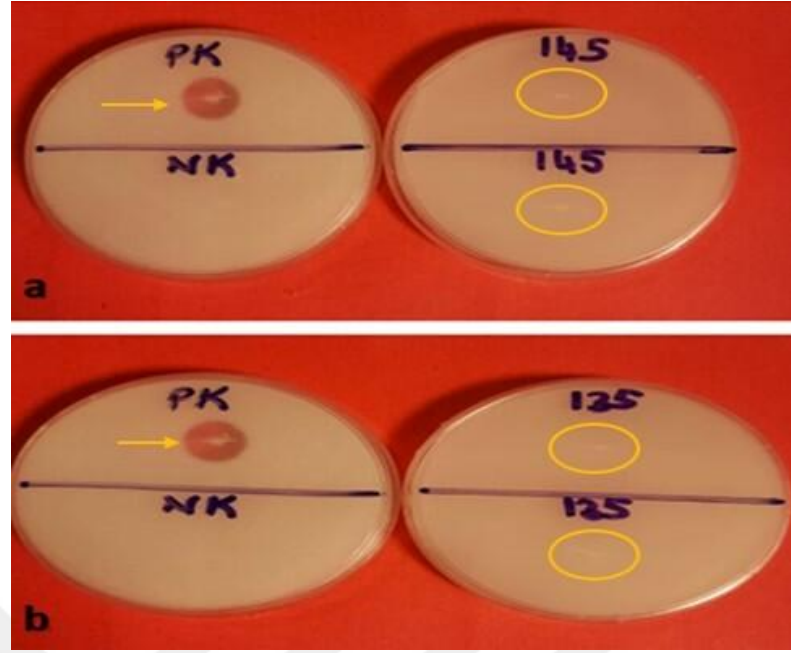
Tablo 4.7: İzolatların HCN üretimi sonuçları.

İzolat numarası	İzolat kodu	HCN üretimi	İzolat numarası	İzolat kodu	HCN üretimi
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692		94	TSR2B-94	++
4	TSR1A-4	-	96	TSR2B-96	+
7	TSR1A-7	-	97	TSR2B-97	-
13	TSR1A-13	-	101	TSR2B-101	-
15	TSR1A-15	-	105	TSR3B-105	-
17	TSR2A-17	-	106	TSR3B-106	++
21	TSR2A-21	-	112	TSR3B-112	-
26	TSR3A-26	-	117	TSR4B-117	-
29	TSR3A-29	-	118	TSR4B-118	-
34	TSR3A-34	+	119	TSR4B-119	-
36	TSR3A-36	-	123	TSR5B-123	+
37	TSR3A-37	-	124	TSR5B-124	+
51	TSR4A-51	-	125	TSR5B-125	-
53	TSR4A-53	-	129	TSR5B-129	-
56	TSR5A-56	-	130	TSR5B-130	-
58	TSR5A-58	-	131	TSR5B-131	-
70	TSR5A-70	-	132	TSR5B-132	-
71	TSR5A-71	-	133	TSR6B-133	-
74	TSR6A-74	-	135	TSR6B-135	+++
75	TSR6A-75	-	137	TSR6B-137	-
78	TSR6A-78	-	140	TSR6B-140	-
79	TSR6A-79	-	141	TSR6B-141	-
90	TSR2B-90	-	144	TSR6B-144	-
91	TSR1B-91	-	145	TSR6B-145	-
93	TSR2B-93	-			

*Tabloda kullanılan semboller, izolatların HCN üretim düzeylerini göstermektedir. “+++” güçlü, “++” orta, “+” zayıf düzeyde üretimi; “-” ise HCN üretiminin gözlenmediğini ifade etmektedir.

4.4.9. Çinko Çözünürlüğü (Kalitatif)

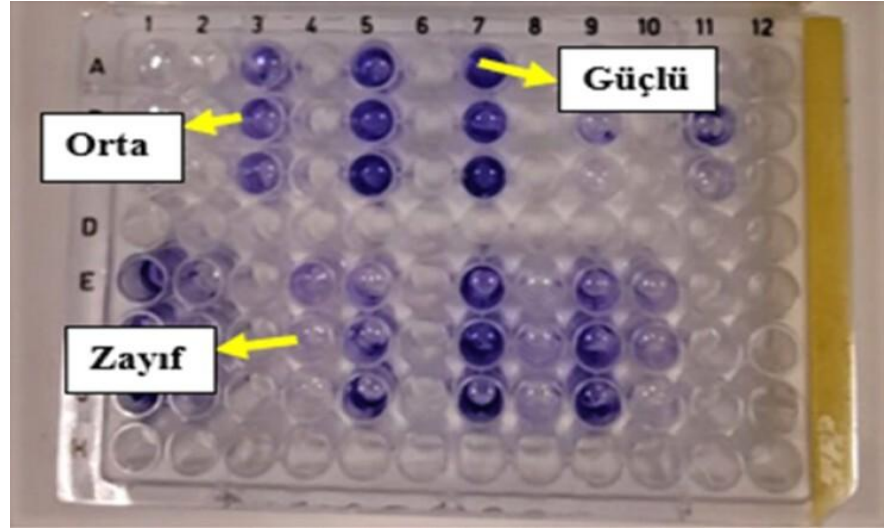
İzolatların çinko çözünürlüğünün belirlenmesi için ZnO^- içeren Tris-minimal salt agar besiyerinde nokta ekim yapılarak koloni çevresinde şeffaf zon oluşumu ile tespit edildi. İzolatların içerisinde Pozitif kontrol bakterisi *P.aeruginosa* ATCC 15692 ile yapılan karşılaştırma da izolatların tümünün ZnO^- çözümlüme özelliğine sahip olmadıkları görüldü (Şekil 4.10).



Şekil 4.10: Bazı İzolatların ZnO⁻ içeren besiyerinde koloni çevresinde şeffaf zon oluşumu ile çözünürlüğüne ait sonuçlar. PK: Pozitif Kontrol (*P.aeruginosa* ATCC 15692), NK: Negatif kontrol (Bakteri ekimi yapılmayan). **a)** TSR6B-145'e ait görüntü, **b)** TSR6B-135'e ait görüntü.

4.4.10. Biyofilm Üretimi

İzolatların biyofilm oluşumu değerlendirilerek pozitif kontrol bakterisinin absorbans değerlerine göre kategorize edildi. Absorbans değerleri 0.715'in üzerinde olan izolatlar (>%75) **güçlü** biyofilm üreticileri, 0.102 - 0.715 (%25-%75) arasında değişen izolatlar **orta** biyofilm üreticileri, 0.102'nin altında olanlar (<%25) **zayıf** biyofilm üreticileri olarak tanımlandı [Lade vd., 2019]. Bu değerlendirmeye göre 2 izolatın güçlü (+++), 21 izolatın orta (++), 1 izolatın zayıf (+) biyofilm üretme yeteneği olduğu, 24 izolatın ise Biyofilm üretme yeteneğinin olmadığı görüldü (Şekil 4.11). İzolatların Biyofilm üretme yeteneklerinin sonuçları **Tablo 4.8** 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.11: İzolatların Kristal Viole Boyama Yöntemiyle 96 Kuyucuklu Mikro-Titer Plakada Biyofilm Oluşumunun görselleştirilmesi.

Tablo 4.8: İzolatların Biyofilm üretme yeteneklerinin sonuçları.

İzolat numarası	İzolat kodu	Absorbans (A ₆₀₀)	Biyofilm üretimi
Pozitif kontrol	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 15692	0.41	++
4	TSR1A-4	0.06	-
7	TSR1A-7	0.30	++
13	TSR1A-13	0.52	++
15	TSR1A-15	-	-
17	TSR2A-17	0.12	+
21	TSR2A-21	0.09	-
26	TSR3A-26	0.05	-
29	TSR3A-29	0.06	-
34	TSR3A-34	0.21	++
36	TSR3A-36	-	-
37	TSR3A-37	0.02	-
51	TSR4A-51	0.10	-
53	TSR4A-53	0.13	++
56	TSR5A-56	0.09	-
58	TSR5A-58	0.08	-
70	TSR5A-70	0.17	++
71	TSR5A-71	0.69	++
74	TSR6A-74	0.45	++
75	TSR6A-75	0.20	++
78	TSR6A-78	0.58	++

Tablo 4.8: Devam.

79	TSR6A-79	0.32	++
90	TSR2B-90	0.42	++
91	TSR1B-91	0.01	-
93	TSR2B-93	0.04	-
94	TSR2B-94	-	-
96	TSR2B-96	0.14	++
97	TSR2B-97	0.44	++
101	TSR2B-101	0.06	-
105	TSR3B-105	-	-
106	TSR3B-106	0.01	-
112	TSR3B-112	0.08	-
117	TSR4B-117	0.03	-
118	TSR4B-118	0.04	-
119	TSR4B-119	0.55	++
123	TSR5B-123	0.55	++
124	TSR5B-124	0.04	-
125	TSR5B-125	0.31	++
129	TSR5B-129	1.07	+++
130	TSR5B-130	0.02	-
131	TSR5B-131	0.86	+++
132	TSR5B-132	0.16	++
133	TSR6B-133	0.04	-
135	TSR6B-135	0.10	-
137	TSR6B-137	0.16	++
140	TSR6B-140	0.18	++
141	TSR6B-141	0.18	++
144	TSR6B-144	0.20	++
145	TSR6B-145	0.05	-

*Tabloda kullanılan semboller, izolatların Biyofilm üretim düzeylerini göstermektedir. “+++” güçlü, “++” orta, “+” zayıf düzeyde üretimi; “-” ise Biyofilm üretiminin gözlenmediğini ifade etmektedir.

4.5. Oluşturulacak olan Mikrobiyal Konsorsiyum Aday İzolatların Seçilmesi ve Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Tanımlanması

Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırları içerisinde bulunan hububat ekim alanlarından alınan 6 farklı lokasyondan alınan toprak örnek izole edilen izolatlar arasından 48 izolat içerisinde en iyi ve farklı bitki büyüme teşvik edici özelliklere sahip altı izolat seçildi. 48 izolat içerisinde sırasıyla TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129, TSR5B-131 ve TSR6B-135 kodlu izolatlar için Moleküler yöntemler ile tür

tanımlaması yapıldı. En iyi ve farklı Bitki büyüme teşvik edici özelliklere sahip olarak seçilen izolatların özellikleri **Tablo 4.9'**da gösterilmiştir.

Tablo 4.9: Seçilen izolatların Bitki büyüme teşvik edici özellikleri.

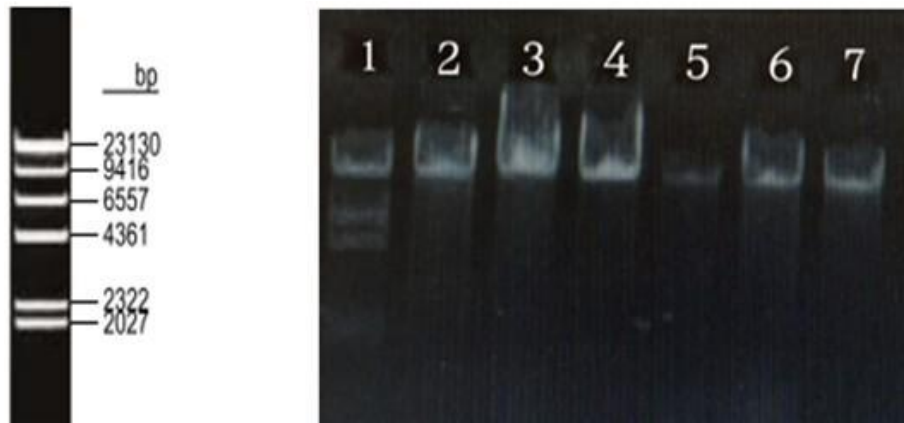
İzolat kodu	Bitki Büyüme Teşvik edici özellikleri
TSR3A-34	Azot fiksasyonu, siderofor üretimi, Amonyum üretimi
TSR4A-51	Fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi, biyofilm üretimi, İndol asetik asit üretimi
TSR3B-106	Fosfat çözünürlüğü, siderofor üretimi
TSR5B-129	Biyofilm üretimi ve fosfat çözünürlüğü
TSR5B-131	Siderofor üretimi, biyofilm üretimi ve fosfat çözünürlüğü
TSR6B-135	HCN üretimi ve siderofor üretimi

4.5.1. Genomik DNA İzolasyonu

Seçilen izolatların DNA izolasyonları **Bölüm 4.5'**te belirtildiği gibi gerçekleştirildi.

4.5.2. DNA'nın Agaroz Jelde Yürütülmesi

İzolasyon sonrası elde edilen örneklerde, DNA varlığı agaroz jelde bant profilleri görüntülendi (Şekil 4.12).



Şekil 4.12: Genomik DNA'ların agaroz jel elektroforezden elde edilen bant profilleri. 1) Lambda DNA/Hind III marker, 2) TSR3A-34, 3) TSR4A-51, 4) TSR3B-106, 5) TSR5B-129, 6) TSR5B-131, 7) TSRB-135.

4.5.3. DNA Miktarının Belirlenmesi

Elde edilen DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflıkları, $A_{280/260}$ oranı kullanılarak NanoDrop cihazı ile belirlendi ve sonuçlar **Tablo 4.10**'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10: İzolatların DNA örneklerinin NanoDrop sonuçları.

İzolat kodu	Genomik DNA miktarı (ng/μl)	$A_{260/280}$
TSR3A-34	143.2	1.76
TSR4A-51	468.5	1.82
TSR3B-106	280.2	1.83
TSR5B-129	87.6	1.84
TSR5B-131	216.4	1.85
TSR6B-135	97.3	1.81

4.5.4. 16SrDNA Dizisinin PZR ile Çoğaltılması

İzolatların tür düzeyinde tanımlanması için 16S rDNA bölgesi PZR ile çoğaltılmış olup, ~1500 bp'lik hedef bölge agaroz jelde doğrulanmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13: 27F/1491R evrensel primerleri kullanılarak PCR ile çoğaltılan 16S rDNA dizilerinin agaroz jel üzerindeki bant görüntüleri. 1) 100bp'lik marker, 2) TSR3A-34 3) TSR4A-51, 4) TSR3B-106, 5) TSR5B-129, 6) TSR5B-131, 7) TSR6B-135.

Çalışmada seçilen 6 izolatın nükleotid dizileri, BLAST veri tabanı ile analiz edilerek tür düzeyindeki benzerlik sonuçları **Tablo 4.11**'de detaylandırılmıştır.

Tablo 4.11: NCBI veritabanı karşılaştırmasıyla 16S rDNA analizi sonuçları.

İzolat numarası	İzolat kodu	Benzerlik oranı(%)	NCBI BLAST sonuçları	Takson Tahmini
34	TSR3A-34	%100	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas</i> sp.
		%100	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	
		%100	<i>Stenotrophomonas</i> sp.	
51	TSR4A-51	%100	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp.
		%100	<i>Bacillus velezensis</i>	
		%100	<i>Bacillus</i> sp.	
106	TSR3B-106	%97.33	<i>Pseudomonas koreensis</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
		%97.33	<i>Pseudomonas koreensis</i>	
		%97.33	<i>Pseudomonas paraglycinae</i>	
129	TSR5B-129	%100	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>Bacillus</i> sp.
		%100	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	
		%100	<i>Bacillus</i> sp.	
131	TSR5B-131	%100	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus</i> sp.
		%96.29	<i>Bacillus</i> sp.	
		%95.37	<i>Bacillus</i> sp.	
135	TSR6B-135	%100	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>Pseudomonas</i> sp.
		%100	<i>Pseudomonas</i> sp.	
		%100	<i>Pseudomonas</i> sp.	

4.6. Seçilen İzolatların Biyokimyasal karakterizasyonlarının belirlenmesi

Seçilen altı izolata; hareketlilik, glukoz kullanımı ve gaz üretimi, sitrat kullanım kapasitesi ile nişasta hidrolizi testleri, yöntem bölümünde belirtilen standart protokollere uygun olarak yürütülmüştür. Söz konusu testlerin sonuçları **Tablo 4.12'**de sunulmuştur.

İzolatların test sonuçları benzerliklerine göre değerlendirildiğinde, *Stenotrophomonas* türüne yakınlığı tespit edilen izolat TSR3A-34 hareketlilik testinde negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Her ne kadar literatürde *Stenotrophomonas* türlerinin çoğunlukla hareketli olduğu bildirilse de, hareketsiz suşlara dair bulgular da mevcuttur. Glukoz kullanım testinde izolat TSR3A-34 negatif sonuç verdiği, bu durumun çoğu *Stenotrophomonas* türlerinin glukozu kullanabildiğinden ötürü literatürle örtüşmediği, Sitrat kullanım testinde ise literatürdeki bilgilerle çelişen bir sonuç elde edilmiş, buna karşın nişasta hidrolizi testinden elde edilen negatif sonuç literatür verileriyle örtüşmüştür. *Bacillus* sp. türleriyle benzerlik gösterdiği belirlenen izolat TSR4A-51'nin hareketlilik testi pozitif sonuç vermiştir. Glukoz kullanım

testinde negatif sonuç elde edilmiş, bu durum söz konusu türlerle kısmen uyumlu olmayan bir bulgu olarak değerlendirilmiştir. Sitrat kullanım testinden elde edilen pozitif sonuç ise literatürle örtüşmektedir. Öte yandan, nişasta hidrolizi testinde elde edilen pozitif sonuç, *Bacillus* türleriyle ilgili literatür bilgileriyle örtüşmektedir. *P.koreensis* ile benzerlik gösteren TSR3B-106 numaralı izolatın hareketlilik testinde literatür bilgisine göre negatif sonuç göstermiştir. Glukoz kullanımı testinden elde edilen pozitif sonuç da çoğu *Pseudomonas* türleri ile örtüşmektedir. Sitrat kullanım testinde gözlemlenen pozitif sonuç ile çoğu *Pseudomonas* türlerinde pozitif sonuç beklendiğinden, literatür bilgileri ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir. Nişasta hidrolizi testinde elde edilen negatif sonuç ise mevcut bilgilerle tutarlı olduğu görülmüştür. *B.amyloliquefaciens* ile benzerlik gösteren TSR5B-129 Hareketlilik, Glukoz fermentasyonu ve Nişasta Hidrolizi testinde pozitif sonuç verdiği Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kitabında verilen bilgiler ile uyumlu olduğu ancak Sitrat kullanımının sonucunun negatif olması ile örtüşmediği görülmüştür. *B.subtilis* ile benzerlik gösteren izolat TSR5B-131 izolatın Hareketlilik, Glukoz kullanımı, Nişasta hidrolizi testinde pozitif sonuç verdiği Bergey's Manual of Systematic Bacteriology kitabında verilen bilgiler ile uyumlu olduğu ancak Sitrat kullanımının sonucunun negatif olması ile örtüşmediği görülmüştür. *Pseudomonas* sp. ile benzerlik gösteren TSR6B-135 Hareketlilik test sonucu literatür bilgileri ile örtüşürken, Sitrat kullanımı, Glukoz kullanım testinden elde edilen negatif sonuç ile örtüşmemekte iken Nişasta hidrolizi testinde sonuç negatif olmasıyla birlikte literatür ile uyumlu olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 4.12: İzolatların biyokimyasal test sonuçları.

İzolat kodu	Hareketlilik testi	Glukoz kullanımı/ Gaz oluşumu	Sitrat kullanımı	Nişasta hidrolizi
TSR3A-34	-	-/-	-	-
TSR4A-51	+	-/-	+	+
TSR3B-106	-	+/-	+	-
TSR5B-129	+	+/-	-	+
TSR5B-131	+	+/-	-	+
TSR6B-135	+	-/-	-	-

4.7. Seçilen İzolatların *In vitro* Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Seçilen izolatların, LB agar besiyerine Cross-streak (çapraz çizgi) yöntemiyle ekimleri yapıldı. İzolatlar arasındaki etkileşimler, karşılıklı büyüme bölgeleri gözlemlenerek değerlendirildi (Şekil 4.15),(Şekil 4.16),(Şekil 4.17),(Şekil 4.18),(Şekil 4.19). İzolatların karşılaştığı bölgelerde herhangi bir büyüme inhibisyonu gözlemlenmemesi, söz konusu izolatlar arasında antagonistik bir etkileşimin bulunmadığını ve dolayısıyla uyumlu olduklarını göstermekte iken, temas bölgelerinde büyümenin kısmen veya tamamen inhibe edilmesinde ise, olası bir antagonistik etki olduğunu göstermekte olup, bu durum uyumsuz olarak kaydedilmiştir (Tablo 4.16).

Tablo 4.13: Seçilen izolatların Cross-streak plaka yöntemi kullanılarak birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirme sonuçları.

İzolat kodu	34	51	106	129	131	135
TSR3A-34		+	+	+	+	+
TSR4A-51			±	+	+	-
TSR3B-106				+	+	-
TSR5B-129					+	-
TSR5B-131						±
TSR6B-135						

+ : uyumlu, - : uyumsuz, ± : rekabet.

Tablo 4.13'te elde edilen bulgular doğrultusunda izolatların (TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106 TSR5B-129 ve TSR5B-131) aralarında herhangi bir antagonistik etkileşim göstermedikleri ve dolayısıyla birbirleriyle uyumlu oldukları belirlenmiştir. Buna karşın, TSR5B-135 kodlu izolatın TSR4A-51, TSR3B-106 ve TSR5B-129 kodlu izolatlarla karşılıklı etkileşimlerinde büyüme inhibisyonu gözlemlenmiş olup bu durum uyumsuz olarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle, İzolat TSR6B-135'nin mikrobiyal konsorsiyumun oluşturulması sürecine dahil edilmemiştir. Cross-streak (Çapraz çizgi) metodu ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirildiğinde seçilen izolatların TSR3A-34 kod numaralı izolat ile uyumlu oldukları gözlemlendi (Şekil 4.14).



Şekil 4.14: TSR3A-34 kodlu izolatın diğer izolatlar birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.

Cross-streak (Çapraz çizgi) metodu ile uyumlulukları birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirildiğinde seçilen izolatların TSR41-51 ve TSR3B-106 kodlu izolat ile rekabette olduğu, TSR5B-129 ve TSR5B-131 kodlu izolat ile uyumlu oldukları, TSR6B-135 kodlu izolat ile uyumsuz oldukları gözlemlendi (Şekil 4.15).



Şekil 4.15: TSR4A-51 kodlu izolatın seçilen izolatlar ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirmesi.

Cross-streak (Çapraz Çizgi) metodu ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirildiğinde seçilen izolatların TSR3B-106 kod izolatın TSR5B-129 ve TSR5B-131 kodlu izolatlar ile uyumlu oldukları, TSR6B-135 kodlu izolat ile uyumsuz oldukları gözlemlendi (Şekil 4.16).



Şekil 4.16: TSR3B-106 kodlu izolatın seçilen izolatlar birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.

Cross-streak (Çapraz çizgi) metodu ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirildiğinde seçilen izolatların TSR5B-129 kod numaralı izolatın TSR5B-131 kodlu izolat ile uyumlu olduğu, TSR6B-135 kodlu izolat ile uyumsuz oldukları gözlemlendi (Şekil 4.17).



Şekil 4.17: TSR5B-129 kodlu izolatın seçilen izolatlar ile yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.

Cross-streak (Çapraz çizgi) metodu ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirildiğinde TSR5B-131 Kodlu izolatın TSR6B-135 kodlu izolat ile rekabette olduğu gözlemlendi (Şekil 4.18).



Şekil 4.18: TSR5B-131 kodlu izolatın TSR5B-135 kodlu izolat ile birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirilmesi.

4.8. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumun Buğday Fidelerinin Büyümesine Etkilerinin Taranması

Cross-streak (Çapraz çizgi) yöntemine dayalı yapılan değerlendirmeler, TSR6B-135'in, TSR4A-51, TSR3B-106 ve TSR5B-129 numaralı izolatlarla uyumsuz olduğu ve TSR5B-131 izolat ile rekabetçi oldukları belirlendi. TSR6B-135, HCN üretme kapasitesine sahip ve diğer izolatlarla uyumsuz olduğundan konsorsiyum gruplarına eklenmedi. Diğer beş izolat (TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129 ve TSR5B-131) arasındaki uyumlu etkileşimlerine dayalı olarak konsorsiyum grupları oluşturuldu ve bu grupların içerikleri **Tablo 4.14**'te belirtildi.

Tablo 4.14: Seçilen izolatlar ile oluşturulan konsorsiyum grupları.

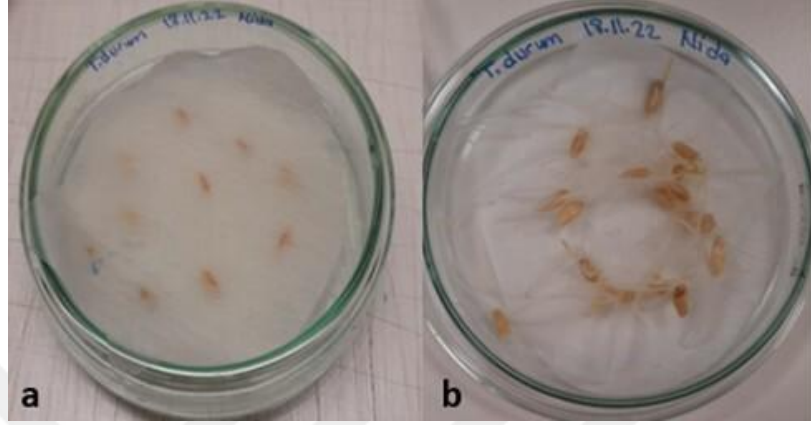
Konsorsiyum grupları			
İkili aşılama (İ)	Üçlü aşılama (Ü)	Dörtlü aşılama (D)	Beşli aşılama (B)
34+51 (1)*	34+51+106 (1)	34+51+106+129 (1)	34+51+106+129+131(1)
34+106 (2)	34+51+129 (2)	34+51+106+131(2)	
34+129 (3)	34+51+131 (3)	34+51+129+131 (3)	
34+131(4)	34+106+129 (4)		
51+106 (5)	34+106+131(5)		
51+129 (6)	34+129+131(6)		
51+131 (7)			
106+129 (8)			
106+131(9)			
129+131(10)			

*Parantez içinde belirtilen sayılar konsorsiyum numaralarını göstermektedir.

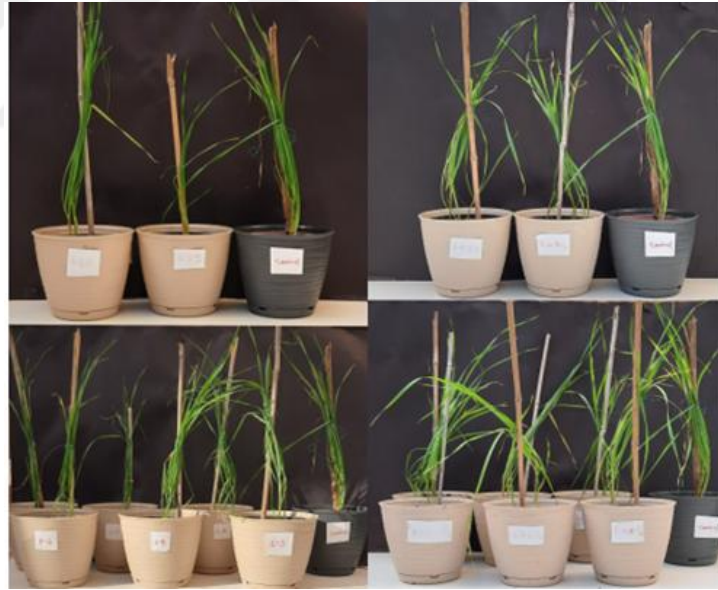
4.9. Oluşturulan Mikrobiyal Konsorsiyumun Bitki Büyümesi Üzerindeki Etkileri

Mikrobiyal konsorsiyum gruplarının oluşturulmadan önce steril edilen Buğday tohumları 5 gün +4°C'de vernalize edildi (Şekil 4.19). Vernalize olan Buğday tohumları kontrol grubu da dahil olmak üzere 21 grup üç tekrarlı olacak şekilde ekildikten sonra PGP özelliklerini değerlendirmek ve en umut verici PGP aktivitelerini gösteren konsorsiyumu belirlemek için oluşturulan konsorsiyum grupları ile aşılama

yapılarak 6 hafta boyunca takip edildi. 6 hafta sonra, bakteri ile aşılanan bitki grupları aşılanmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldı ve büyümeyi teşvik edici parametreler açısından değerlendirildi (Şekil 4.20).



Şekil 4.19: Vernalizasyon aşamaları. a)Buğday tohumlarının sterilizasyon sonrasında filtre kağıdına eklendikten sonra +4°C’de saklanması, b)5 gün boyunca +4°C’de çimlenen buğday tohumları.

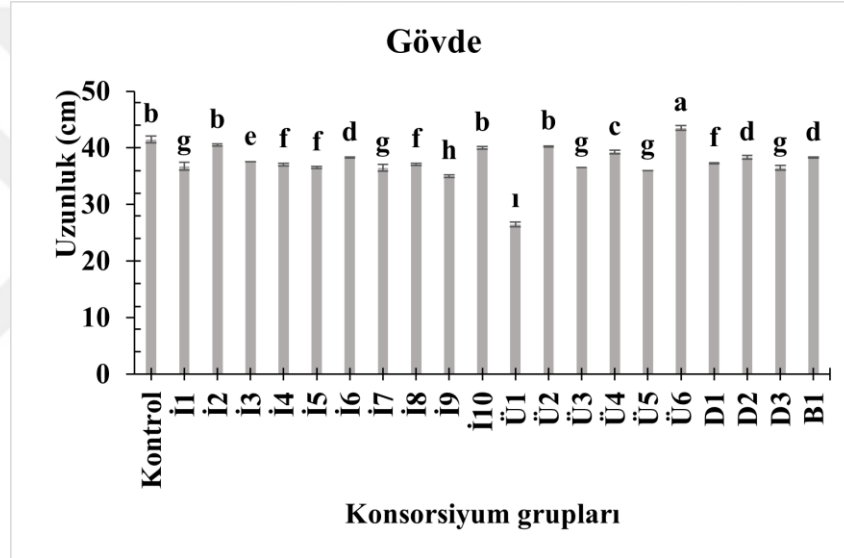


Şekil 4.20: Altı haftanın sonunda deneme gruplarının genel görüntüleri.

Konsorsiyum grupları arasında buğday bitkilerinin gövde uzunlukları 35.0 – 43.5 cm aralığında ölçüldü (Şekil 4.21). En yüksek gövde uzunluğu, 43.5 cm ile Ü6 grubunda gözlemlendi ve bu değer kontrol grubuna kıyasla % 4.81 oranında bir artış gösterdi. Elde edilen veriler, Ü6 grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek gövde uzunluğu sağladığı belirlendi (Şekil 4.22).

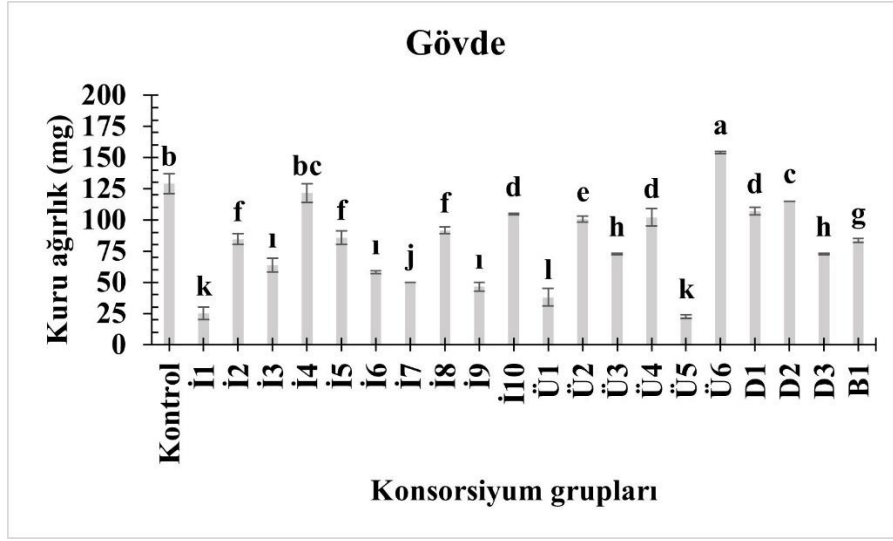


Şekil 4.21: Konsorsiyum gruplarının negatif kontrol grubu ile gövde uzunluklarının karşılaştırılması. a) D1, b)İ8, c)Ü1 ve d) Ü5 kodlu konsorsiyum gruplarının sürgün uzunluklarının görünümü.



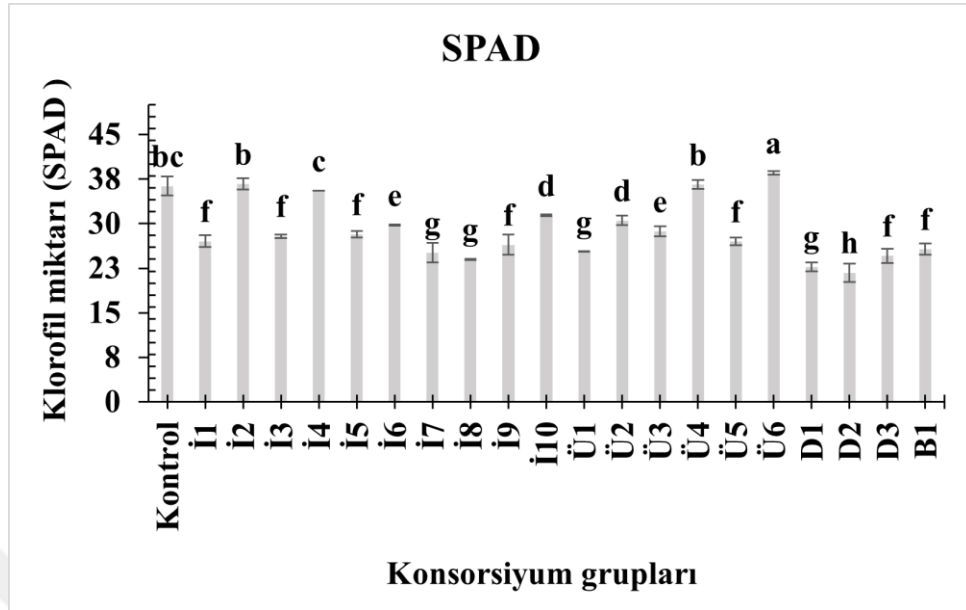
Şekil 4.22: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin gövde uzunlukları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir ($p < 0.05$).

Konsorsiyumların gövde kuru ağırlığı üzerine etkilerinin incelediğimizde, kuru ağırlıkları 22.5-154.0 mg arasında değiştiği görüldü. En yüksek gövde kuru ağırlığı, 154.0 mg ile Ü6 konsorsiyum grubunda ölçülürken, bu değer kontrol grubu ile kıyasladığımızda %19.37 oranında bir artış gösterdi. Ü6 grubunda elde edilen artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Bu bulgular, Ü6 konsorsiyumunun buğday bitkilerinde gövde biyokütlesinin artırılmasında potansiyel bir biyolojik etkiye sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.23).



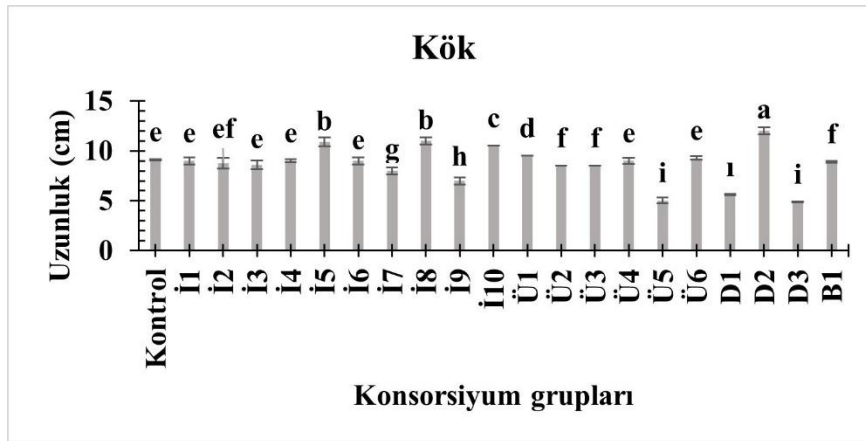
Şekil 4.23: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin gövde kuru ağırlıkları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir ($p < 0.05$).

Buğday bitkilerine uygulanan farklı mikrobiyal konsorsiyumların yaprak klorofil içeriği üzerindeki etkilerinin değerlendirdiğimizde, SPAD değerlerinin 21.8 ile 38.5 birim arasında değiştiği belirlendi. En yüksek klorofil değeri, 38.5 birim ile Ü6 konsorsiyum grubunda ölçüldü ve bu değer kontrol grubuna göre %6.06 oranında bir artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.05$). Bu bulgular, Ü6 konsorsiyumunun fotosentetik pigment birikimini destekleyerek bitki fizyolojisi üzerinde olumlu etkiler oluşturduğunu göstermektedir (Şekil 4.24).



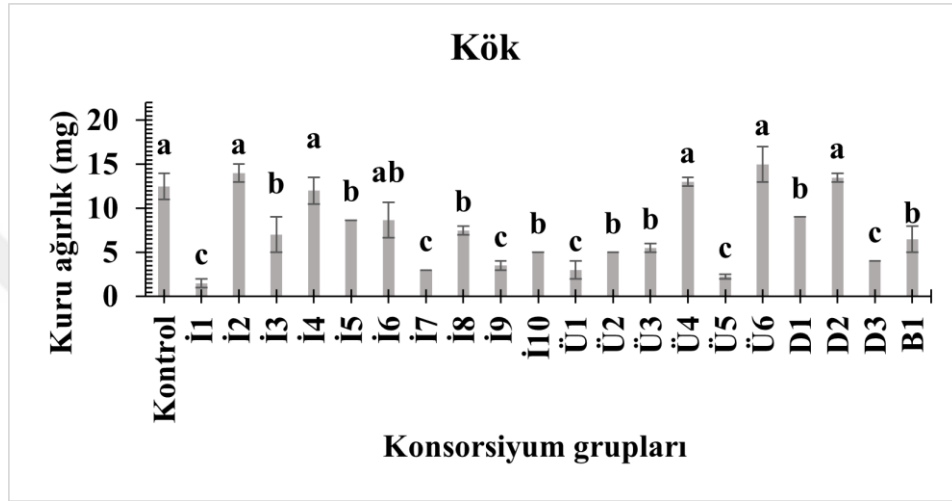
Şekil 4.24: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin Klorofil miktarı (SPAD) . Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir ($p < 0.05$).

Buğday bitkilerine ait kök uzunlukları, konsorsiyum grupları arasında 5.0 ile 12.0 cm arasında ölçüldü En uzun kök uzunluğu 12.0 cm ile D2 grubunda kaydedilmiş olup, bu değer kontrol grubuna göre % 4.81 oranında artış göstererek bu artışın kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha uzun kök gelişimi sağladığını ortaya koymuştur (Şekil 4.25)($p < 0.05$).



Şekil 4.25: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin kök uzunlukları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir ($p < 0.05$).

Buğday bitkilerine ait kök kuru ağırlıkları, gruplar arasında 1.5 ile 14.0 mg arasında değişiklik gösterdiği görüldü. En yüksek kök kuru ağırlığı 14.0 mg ile İ2 grubunda ölçülmüş olmakla birlikte, bu artış kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Bu sonuçlar, uygulanan mikrobiyal konsorsiyumların kök kuru ağırlıkları üzerinde belirgin bir etki oluşturmadığını göstermektedir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26: Konsorsiyum uygulamalı buğday bitkilerinin kök kuru ağırlıkları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirtmektedir ($p < 0.05$).

Elde edilen veriler TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131 izolatları içeren konsorsiyum grubunun, gövde uzunluğu, gövde biyokütlesi ve klorofil içeriğinde anlamlı derecede artış sağladığını göstermektedir. Bu sonuçlar, söz konusu konsorsiyumun, Buğday verimini artırmada etkili bir çözüm olabileceğini ve tarımsal üretimde kullanılabilecek önemli bir biyoteknolojik araç olduğunu ortaya koymaktadır.

4.10. Seçilen İzolatlar ile İki Farklı Konsorsiyum Gruplarının Oluşturulması

Seçilen birbirleri ile uyumlu olan üç izolat (TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131) ve bu izolatlarla ayrıca daha önce laboratuvarımızın doku kültürü çalışmalarında alev ağacından izole edilen ve altkültürleme yapmaksızın konukçusunun ömrünü 16 aya kadar uzatan, kültür kabında köklenmesine yardımcı olan ve de Bitki Büyüme teşvik

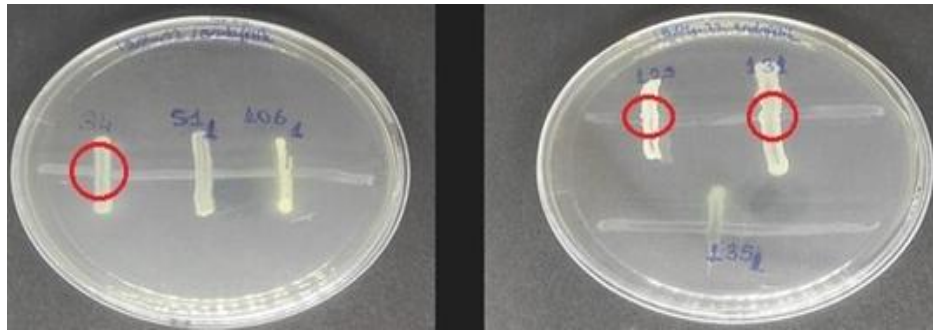
edici özelliklere (Azot fikse etme, indol asetik asit üretme) sahip PGB_invit bakterisi eklenerek oluşturulan konsorsiyum ile toplamda iki grup oluşturuldu [Şeker vd., 2017], (Tablo 4.15).

Tablo 4.15: Seçilen izolatlar ile iki farklı konsorsiyum gruplarının üyeleri.

Konsorsiyum grupları		İçerik			
1.	Seçilen izolatlar ile oluşturulan konsorsiyum	TSR3A-34	TSR5B-129	TSR5B-131	
2.	Seçilen izolatlar ve PGB_invit bakterisi ile oluşturulan konsorsiyum	TSR3A-34	TSR5B-129	TSR5B-131	PGB_invit

4.10.1 Seçilen İzolatlar ve PGB_invit Bakterisinin *In vitro* Cross-Streak (Çapraz Çizgi) Metodu ile Birlikte Yaşayabilme Özelliklerinin Değerlendirilmesi

Seçilen izolatlar ile PGB_invit bakterisi MPYE besiyerine Cross-streak (çapraz çizgi) yöntemiyle ekildi. İzolatların PGB_invit bakterisi ile arasındaki etkileşimleri, karşılıklı büyüme bölgeleri gözlemlenerek değerlendirildi ve Şekil 4.27’de kırmızı daire ile gösterildi. İzolatların karşılaştığı bölgelerde herhangi bir büyüme inhibisyonu gözlemlenmemesi, söz konusu izolatların PGB_invit bakterisi ile arasında antagonistik bir etkileşimin bulunmadığını ve dolayısıyla uyumlu olduklarını göstermekte olup, bu bağlamda ilerleyen aşamalarda uyumlu oldukları sonucuna varıldı (Tablo 4.16).



Şekil 4.27: PGB_invit bakterisinin seçilen (TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131) izolatlar ile uyumluluklarının değerlendirilmesi.

Tablo 4.16: Seçilen izolatların PGB_invit bakterisi ile Cross-streak plaka yöntemi birlikte yaşayabilme özelliklerinin değerlendirme sonuçları.

İzolat kodu	TSR3A-34	TSR5B-129	TSR5B-131	PGB_invit
TSR3A-34		+	+	+
TSR5B-129			+	+
TSR5B-131				+
PGB_invit				

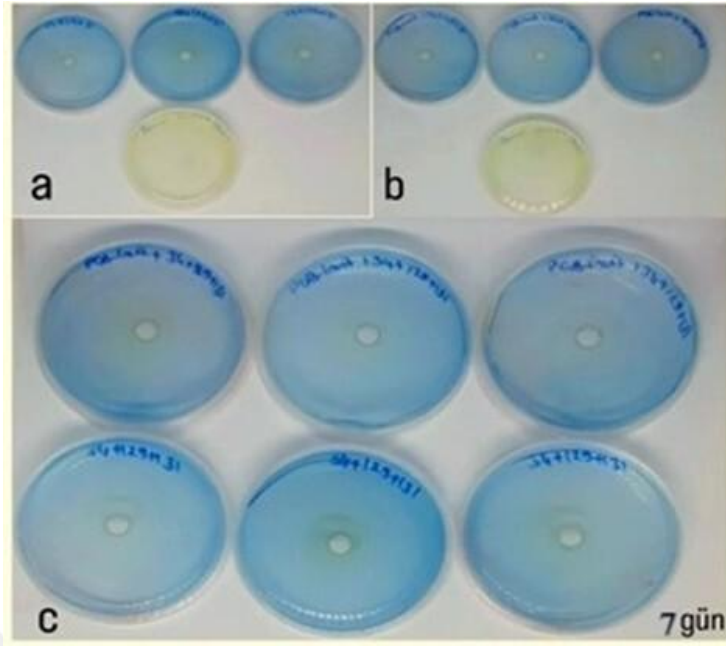
+ : uyumlu.

Tablo 4.16'de elde edilen bulgular doğrultusunda TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131 kodlu izolatların PGB_invit bakterisi ile aralarında herhangi bir antagonistik etkileşim göstermedikleri ve dolayısıyla birbirleriyle uyumlu oldukları belirlenmiştir.

4.10.2. Seçilen İzolatlar İle Oluşturulan Konsorsiyum Gruplarının Bitki Büyüme Teşvik Edici Özelliklerinin Belirlenmesi

4.10.2.1. Azot Fiksasyon Yeteneklerinin Kalitatif Test Sonuçları

Bromtimol mavisi içeren azot içermeyen besiyeri ortamında yapılan niteliksel incelemeler sonucunda, iki farklı konsorsiyum grubunun azot fiksasyon yetenekleri 7 gün sonunda değerlendirildi. Her iki grup da besiyerinin rengini sarımsak-yeşilden maviye dönüştürmeyi başarmıştır. Bu bulgular, her iki konsorsiyumun da benzer şekilde azot sabitleme kapasitesine sahip olduğunu ve aralarında bu açıdan önemli bir fark olmadığı sonucunu ortaya koymaktadır (Şekil 4.28).



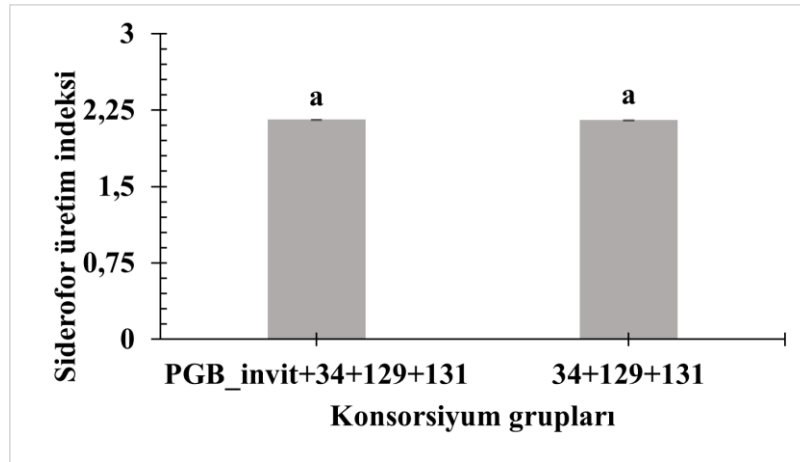
Şekil 4.28: NfB besiyerinde iki farklı konsorsiyum gruplarının Azot fikse etme yeteneklerinin belirlenmesi. a) TSR3A-34, TSR5B-129 ve TSR5B-131 ile oluşturulan konsorsiyum, b) PGB_invit ve TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ile oluşturulan konsorsiyum, c) 7 gün sonunda Azot fikse etme yeteneklerinin derecelendirilmesi.

4.10.2.2. Siderofor Üretiminin Kalitatif Test Sonuçları

Siderofor üretiminin belirlenmesi için; CAS blue agar besiyerinde kuyucuklar açılarak içerisine inoküle edilen konsorsiyumlar 3 gün inkübasyon süresi sonucunda siderofor üreten konsorsiyum gruplarının kuyucuk etrafında sarı/turuncu zon belirmesi konsorsiyumların siderofor ürettiğinin göstergesidir (Şekil 4.29). PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun Siderofor üretim indeksi (2.15), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ise (2.15) olarak belirlendi ve gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$), (Şekil 4.30).



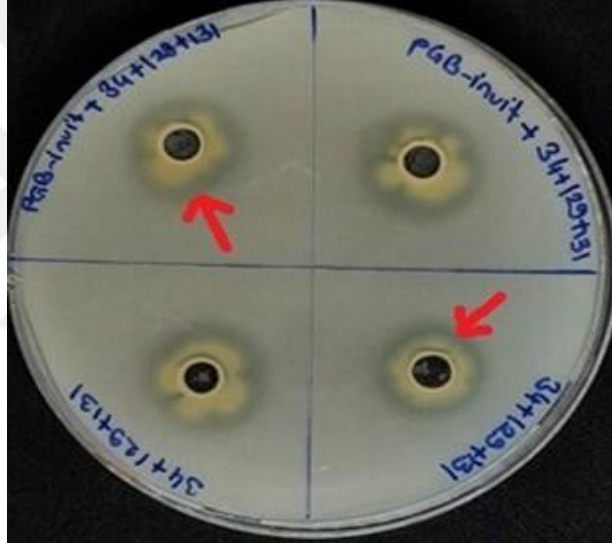
Şekil 4.29: Konsorsiyum gruplarının koloni etrafında CAS Blue agar besiyerinde oluşturduğu sarımtırak şeffaf zonlar. (Ok ile belirtilen sarımsı alanlar, konsorsiyumun siderofor üretiminin gerçekleştiği bölgeleri göstermektedir).



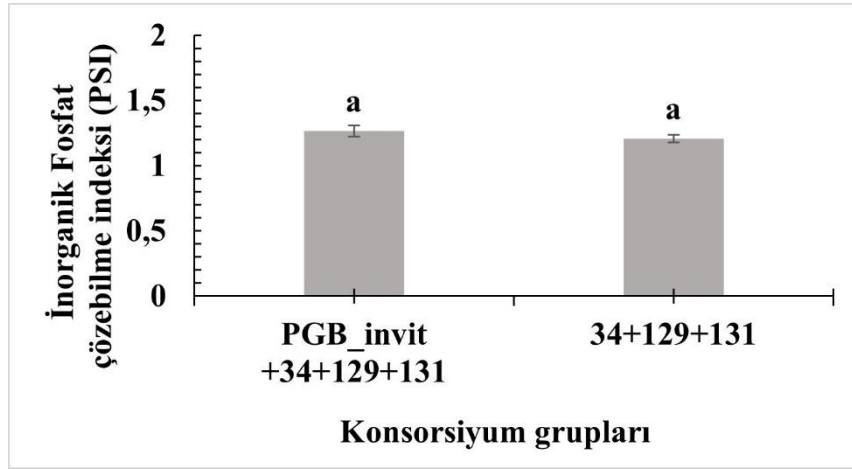
Şekil 4.30: Konsorsiyum gruplarının Siderofor üretim indeksi. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; aynı harfi paylaşan sütunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

4.10.2.3. İnorganik Fosfat Çözebilme Yeteneklerinin Kalitatif Test Sonuçları

Fosfat çözünürlüğünün belirlenmesi için Pikovskaya agar besiyerinde kuyucuklar içerisine inoküle edilen konsorsiyum grupları 7 gün sonunda koloni etrafında şeffaf zon göstermesi, konsorsiyumların Fosfat çözme yeteneklerine sahip olduklarını göstermektedir (Şekil 4.31). PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun Fosfat çözme indeksi (1.26), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ise (1.20) olarak belirlendi ve gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$), (Şekil 4.32).



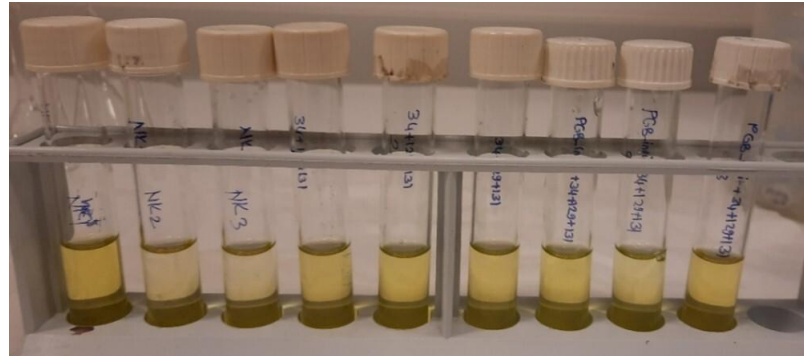
Şekil 4.31: Konsorsiyum gruplarının Pikovskaya agar besiyerinde kuyucuklar etrafında oluşturduğu şeffaf zonlar (Ok ile belirtilen şeffaf alan, konsorsiyumların inorganik fosfat çözme aktivitesini göstermektedir).



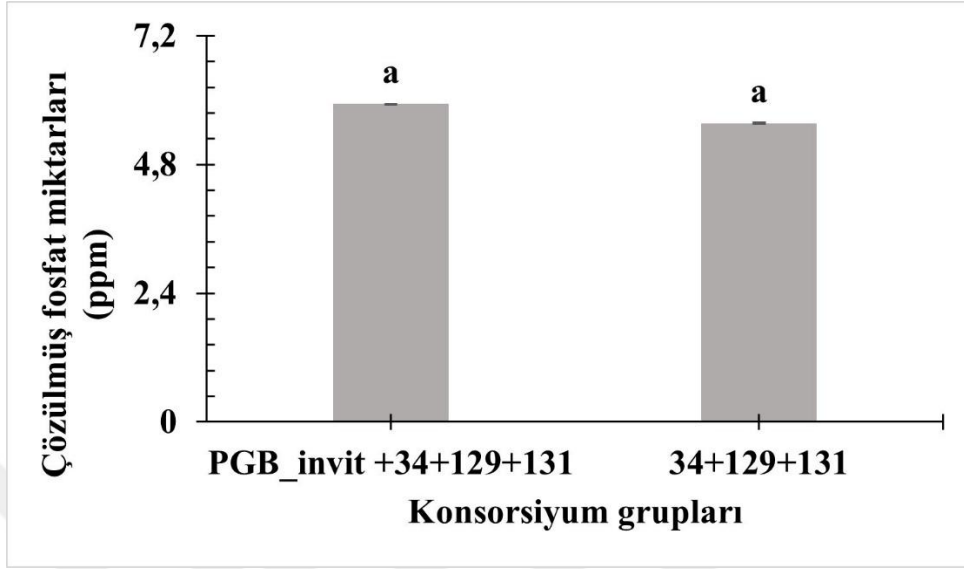
Şekil 4.32: Konsorsiyum gruplarının İnorganik Fosfat çözebilme indeksleri. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; aynı harfi paylaşan sütunlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

4.10.2.4. İnorganik Fosfatı Çözebilme Yeteneklerinin Kantitatif Test Sonuçları

Konsorsiyum gruplarının inorganik fosfat çözme kapasiteleri, vanado-molibdo fosforik asit yöntemi kullanılarak test edildi. PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun (5.86 ppm), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ise (5.80 ppm) olarak inorganik fosfatı çözünür duruma getirdiği belirlendi ve gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmediği tespit edildi ($p > 0.05$), (Şekil 4.33), (Şekil 4.34).



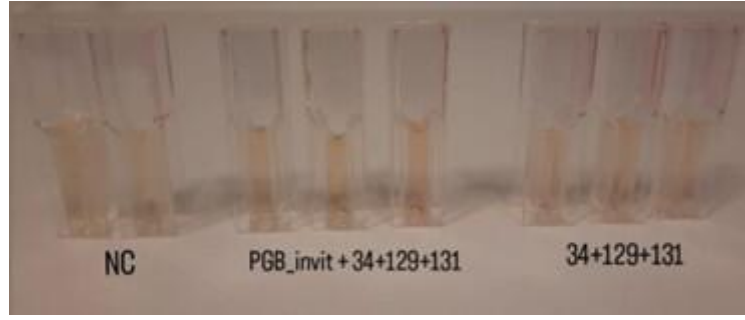
Şekil 4.33: Konsorsiyum gruplarının Vanado-molibdo fosforik asit yöntemi ile test sonuçları. NK: Negatif kontrol (İnokülasyon yapılmayan besiyeri).



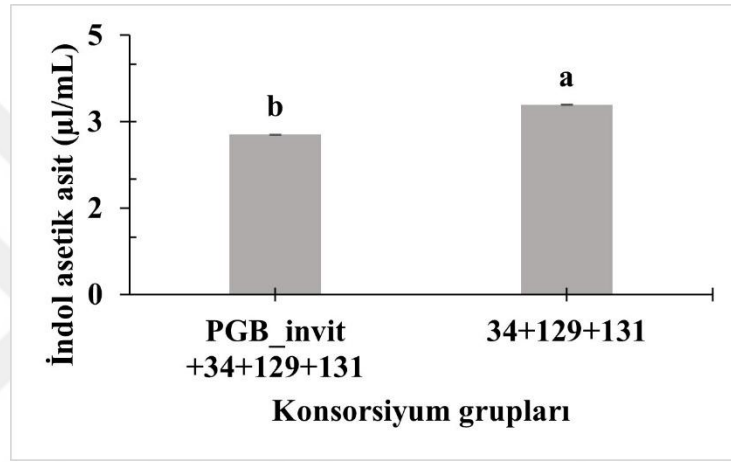
Şekil 4.34: Konsorsiyum gruplarının inorganik fosfatı çözme miktarları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını göstermektedir ($p > 0.05$).

4.10.2.5. İndol Asetik Asit Üretiminin (Kalitatif ve Kantitatif) Belirlenmesine Yönelik Sonuçlar

Konsorsiyum gruplarının İndol asetik asit üretme yetenekleri Gordon ve Weber, (1951)'in yöntemi kullanılarak tespit edildi. 48 saatin sonunda kolorimetrik yöntem olan Salkowski ayırıcı eklenerek rengin pembe renge dönüşümü ile İndol asetik asit varlığı tespit edilmiştir (Şekil 4.35). PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ($2.77 \mu\text{l/mL}$), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ise ($3.29 \mu\text{l/mL}$) olarak indol asetik asit ürettiği tespit edildi. Yapılan istatistiksel analizlerde konsorsiyum grupları arasında indol asetik asit üretim miktarları bakımından anlamlı bir farklılık görüldü ($p < 0.05$), (Şekil 4.36).



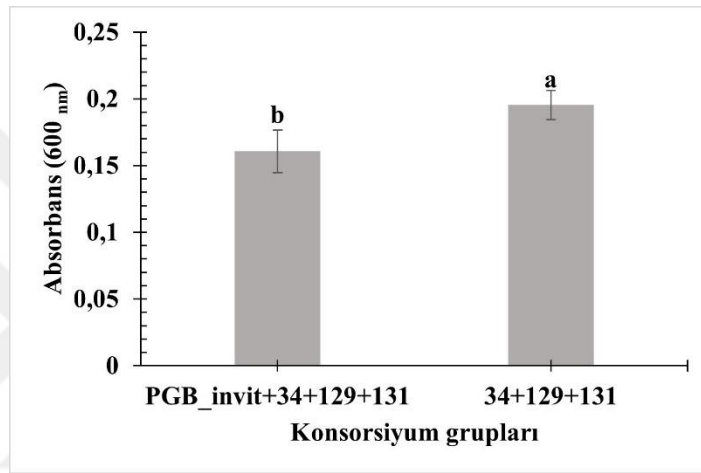
Şekil 4.35: Kolorimetrik metod ile İndol asetik asit üretimi. NC: Negatif kontrol (inokülasyon yapılmayan).



Şekil 4.36: Konsorsiyum gruplarının ürettikleri İndol asetik asit miktarları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

4.10.2.6. Biyofilm Üretme Yeteneklerinin (Kantitatif) Belirlenmesine Yönelik Sonuçlar

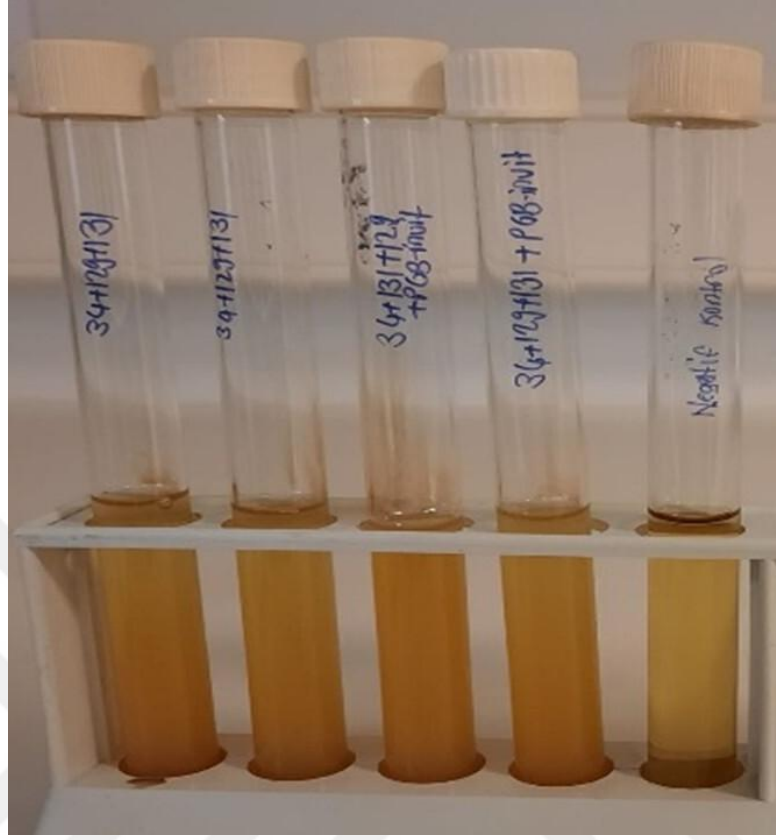
PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun Biyofilm üretim miktarı (0.160), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubunun ise (0.194) OD₆₀₀ olarak ölçülmüş olup, Konsorsiyum gruplarının Biyofilm üretme yetenekleri bakımından aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.37).



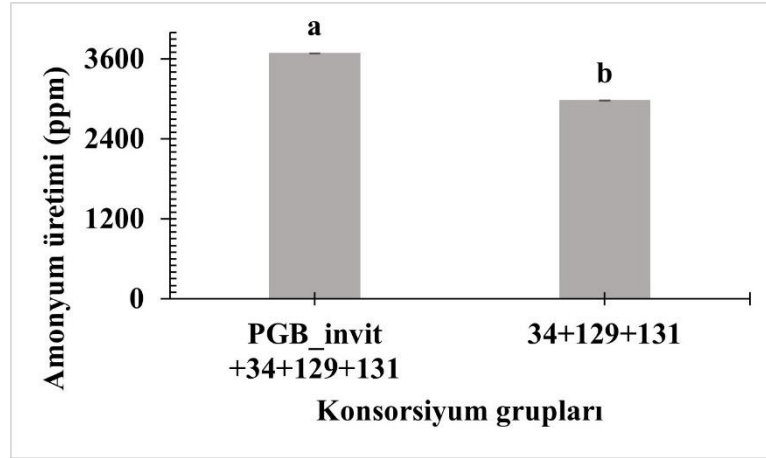
Şekil 4.37: Konsorsiyum gruplarının Kristal viole Absorbans değerleri ile biyofilm üretme kapasiteleri. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p<0.05$).

4.10.2.7. Amonyum Üretimi ile İlgili Elde Edilen Sonuçlar

Konsorsiyum gruplarının Amonyum üretme yetenekleri Cappuccino ve Sherman 'ın (2002) yöntemi kullanılarak yapılan testlerde, 72 saatin sonunda besiyerindeki sarıdan kahverengiye renk değişiminin amonyum üretiminin varlığı tespit edildi (Şekil 4.38). PGB_invit+TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubun (3684 ppm), TSR3A-34+TSR5B-129+TSR5B-131 olan konsorsiyum grubun ise (2976 ppm) olarak amonyum ürettiği tespit edildi. Konsorsiyum grupları arasında Amonyum üretim miktarları bakımından istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.39).



Şekil 4.38: Konsorsiyum gruplarının sarıdan kahverengiye renk değişimi ile Amonyum üretme yeteneklerini gösteren tüpler. Negatif kontrol (İnokülasyon yapılmayan).



Şekil 4.39: Konsorsiyum gruplarının Amonyum üretim miktarları (ppm). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

İki farklı konsorsiyum grubunun bitki büyümesini teşvik özellikleri bakımından değerlendirildiğinde; azot fiksasyonu, inorganik fosfat çözünürlüğü ve siderofor üretimi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmediği görüldü. Bununla birlikte, konsorsiyumlara PGB_invit bakterisinin ilavesi, biyofilm oluşumu ve indol asetik asit üretim düzeylerinde anlamlı bir azalmaya yol açmıştır ($p < 0.05$). Öte yandan, aynı konsorsiyum grubu amonyum üretimini istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmıştır ($p < 0.05$). Bu nedenle, PGB_invit bakterisinin mikrobiyal gübre formülasyonuna dahil edilmesi, özellikle amonyum üretimini artırma potansiyeli açısından ileri aşamalarda değerlendirilmeye uygun bulunmuştur.

4.10.3. Buğday Bitkisinin Uzun Süreli Gelişimlerinin (20 Hafta) Sonuçları

Toprak analiz sonuçlarında, incelenen toprak örneği tınlı tekstür yapısına sahip olup, hafif alkali pH düzeyinde, tuz içeriği açısından tuzsuz ve yüksek kireç ($\%CaCO_3$) içeriği nedeniyle çok kireçli olarak nitelendirilmiştir. Ayrıca organik madde ve fosfor (P_2O_5) düzeyleri orta sınıf düzeyinde, potasyum (K_2O) düzeyi düşük olarak değerlendirilmiştir (Tablo 4.17).

Tablo 4.17: Toprak analiz sonuçlarının değerlendirilmesi.

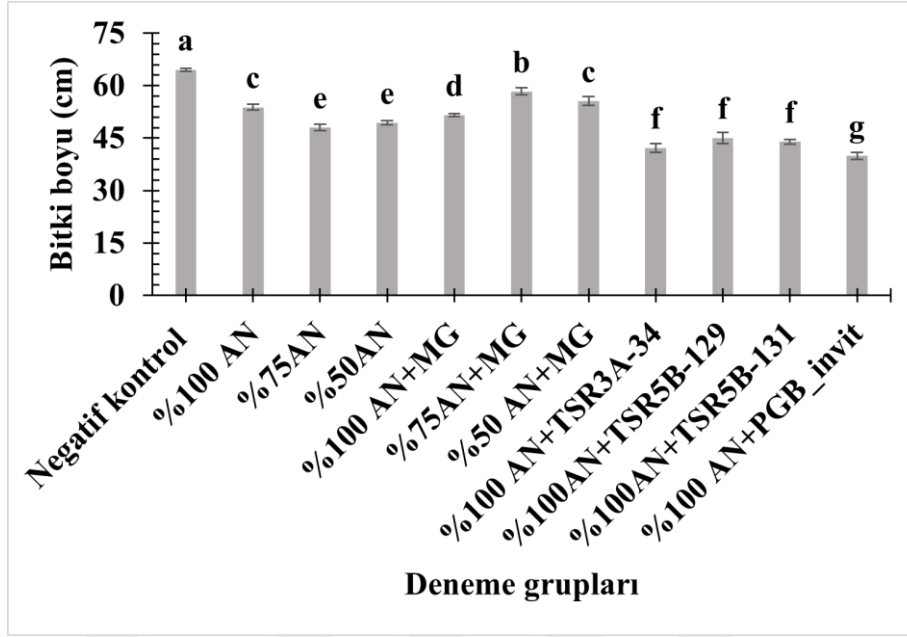
Analiz adı	Birim	Referans Aralığı*	Sonuç	Değerlendirme
Bünye (Tekstür)	%	30-50	37.4	Tınlı
pH		7.5-8.5	7.9	Hafif Alkali
Tuz	%	<0.15	0.01	Tuzsuz
Kireç	%	15-50	19.81	Çok Kireçli
Organik Madde	%	1.7-3.0	2.33	Orta
P ₂ O ₅	kg/da	6-9	8.88	Orta
K ₂ O	kg/da	<100	24.61	Çok düşük

*(Referans Aralığı **Web 4, (2025)**'den alınmıştır).

4.10.4. Verim ve Kalite Parametrelerinin Sonuçları

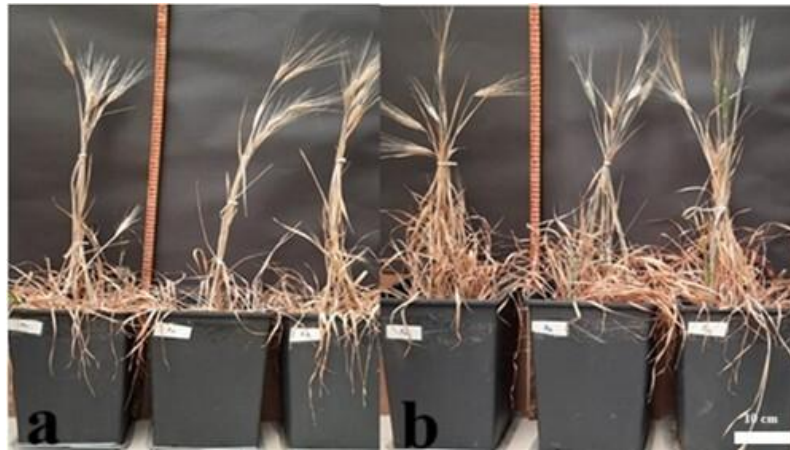
4.10.4.1. Bitki Boyu

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin bitki boyu üzerindeki etkileri **Şekil 4.40**'ta gösterilmiştir. Şekilden de anlaşılabacağı üzere, negatif kontrol grubunda tüm uygulamalara göre en yüksek bitki boy uzunluğu (64.5 cm) ölçüldü ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$). Diğer uygulama gruplarında ise bitki boyunda belirgin bir azalma gözlemlendi, bu durum uygulamaların bitki boy uzunluğu bakımından negatif etkisi olduğu görüldü.



Şekil 4.40: Bitki boy uzunlukları. AN: Amonyum nitrat, MG: Mikrobiyal gübre (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir.

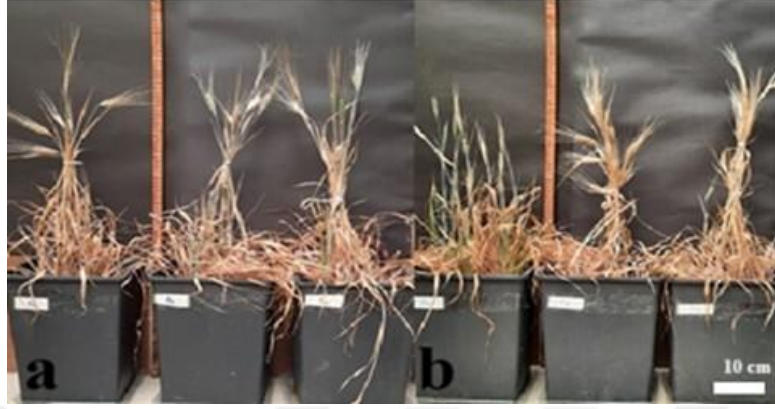
Bitki boyları bakımından elde edilen verileri değerlendirdiğimizde negatif kontrol grubun 64.5 cm iken, %100 AN uygulanan grubun ise 53.8 cm ölçüldü. İki grup arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p < 0.05$), (Şekil 4.41).



Şekil 4.41: Bitki boy uzunlukları. a) Negatif kontrol. b) %100 AN gübre içeren grup. AN: Amonyum nitrat, MG: Mikrobiyal gübre.

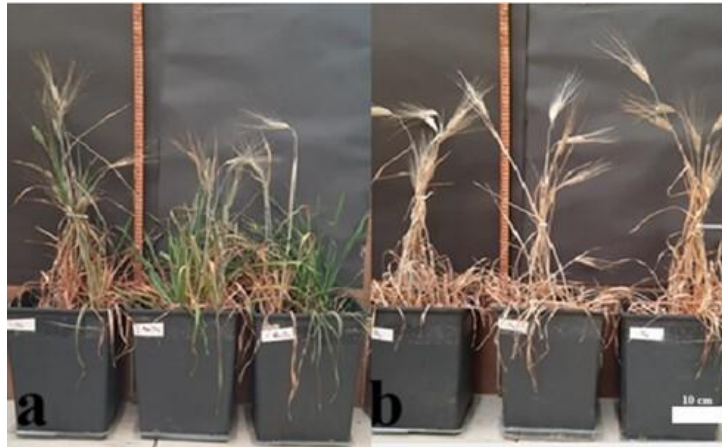
Bitki boyları bakımından elde edilen verileri değerlendirdiğimizde, %100 AN gübresi uygulanan grubun 53.8 cm ve %100 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131

ve PGB_invit) uygulanan grubun ise 51.5 cm olarak ölçüldü. İki grup arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.42).



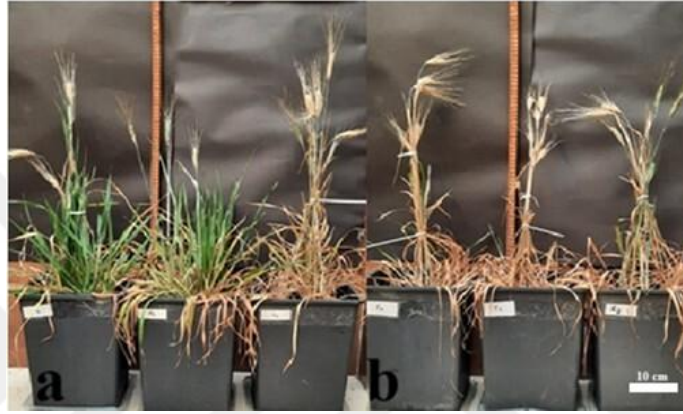
Şekil 4.42: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup. AN: Amonyum nitrat, MG: Mikrobiyal gübre.

Elde edilen veriler ışığında, %75 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 48.0 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ve mikrobiyal gübre ile uygulanan grupta bu değer 58.3 cm'ye arttığı belirlendi. İki uygulama grubu arasında bitki boyu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.43). Bu sonuçlar, mikrobiyal konsorsiyumun bitki gelişimini teşvik edici etkilerini ortaya koymakta olup, özellikle azot uygulamasının azaltıldığı koşullarda biyolojik katkının bitki büyümesini destekleyebileceğini göstermektedir.



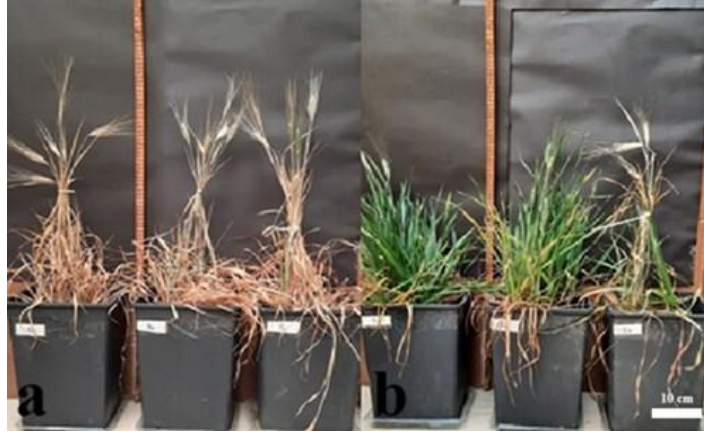
Şekil 4.43: Bitki boy uzunlukları. a) %75 AN içeren grup, b) %75 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

Elde edilen veriler ışığında, %50 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 49.3 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ve mikrobiyal gübre ile uygulanan grupta bu değer 55.5 cm'ye arttığı belirlendi. İki uygulama grubu arasında bitki boyu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$; Şekil 4.44). Bu bulgular, mikrobiyal konsorsiyumun bitki gelişimini teşvik edici etkilerini ortaya koymakta olup, özellikle azot uygulamasının azaltıldığı koşullarda biyolojik katkının bitki büyümesini destekleyebileceğini göstermektedir.



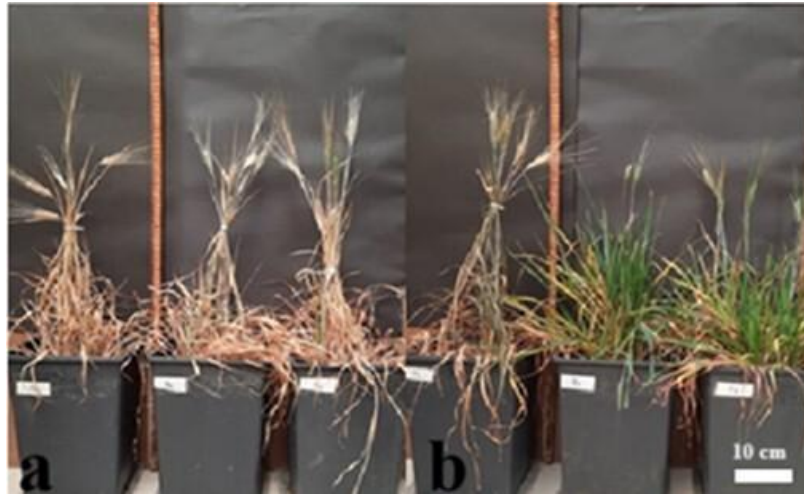
Şekil 4.44: Bitki boy uzunlukları. a) %50 AN içeren grup, b) %50 AN+MG (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit) içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

Elde edilen veriler ışığında, yalnızca %100 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 53.8 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ile TSR3A-34 izolatı uygulanan grupta bitki boyu ortalaması 42.2 cm olarak belirlenmiştir. İki uygulama grubu arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit görüldü ($p<0.05$; Şekil 4.45). Bu bulgular, bu izolatın tek başına ve bu oranda Amonyum nitrat gübre uygulanmasında bitki gelişiminde olumsuz bir etki oluşturabildiğini göstermektedir.



Şekil 4.45: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN +TSRA-34 içeren grup. AN: Amonyum nitrat, MG: Mikrobiyal gübre

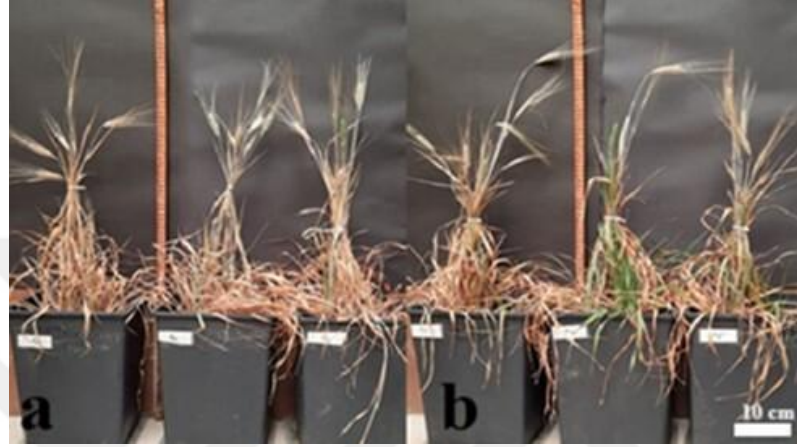
Elde edilen veriler ışığında, yalnızca %100 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 53.8 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ile TSR5B-129 izolatu uygulanan grupta bitki boyu ortalaması 45.0 cm olarak belirlenmiştir. İki uygulama grubu arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.46). Bu bulgular, bu izolatın tek başına ve bu oranda Amonyum nitrat gübre uygulanmasında bitki gelişimi üzerinde olumsuz bir etki oluşturabildiğini göstermektedir.



Şekil 4.46: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN+TSR5B-129 içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

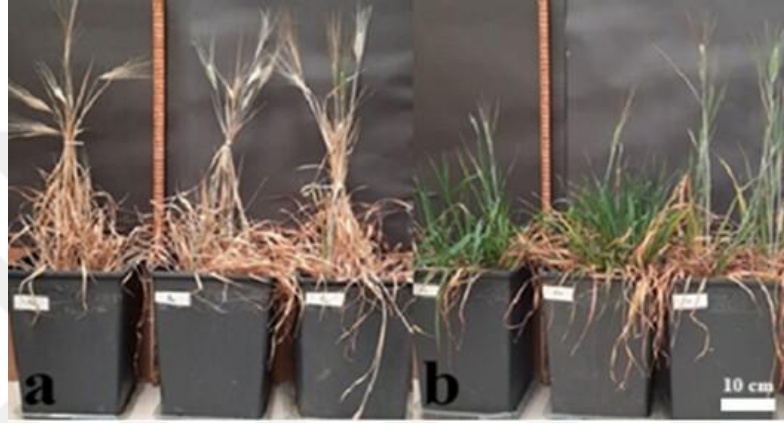
Elde edilen veriler ışığında, yalnızca %100 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 53.8 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ile TSR5B-131 izolatu

uygulanan grupta bitki boyu ortalaması 43.9 cm olarak belirlendi. İki uygulama grubu arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.47). Bu bulgular, bu izolatın tek başına ve bu oranda Amonyum nitrat gübre uygulanmasında bitki gelişimi üzerinde olumsuz bir etki oluşturabildiğini göstermektedir.



Şekil 4.47: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup, b) %100 AN+TSR5B-131 içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

Elde edilen veriler ışığında, yalnızca %100 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bitki boyu 53.8 cm olarak ölçülürken, aynı düzeyde azot gübresi ile PGB_invit bakterisi uygulanan grupta bitki boyu ortalaması 39.9 cm olarak belirlendi. İki uygulama grubu arasında bitki boyu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p<0.05$), (Şekil 4.48). Bu bulgular, bu izolatın tek başına ve bu oranda Amonyum nitrat gübre uygulanmasında bitki gelişimi üzerinde olumsuz bir etki oluşturabildiğini göstermektedir.

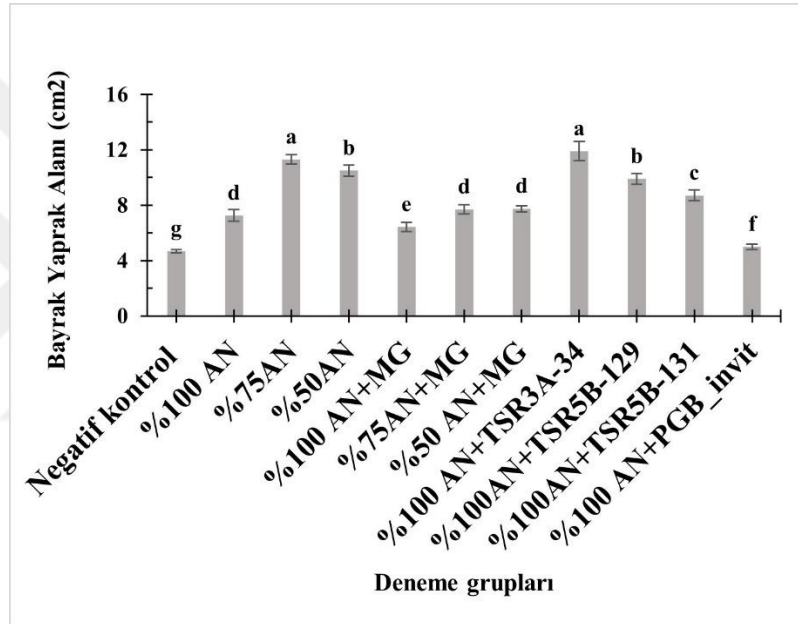


Şekil 4.48: Bitki boy uzunlukları. a) %100 AN içeren grup. b) %100 AN+ PGB_invit içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

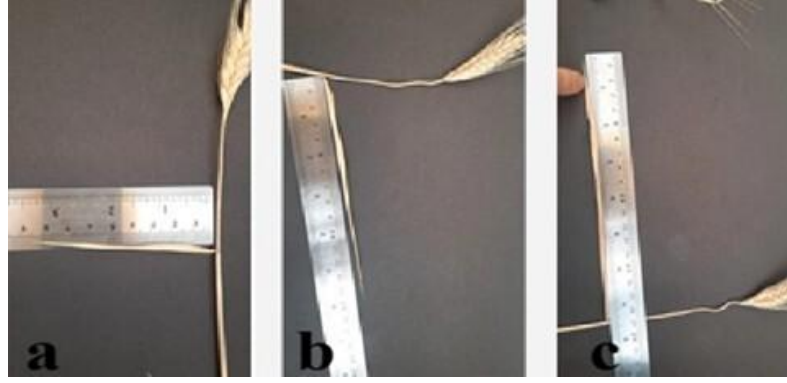
4.10.4.2. Bayrak Yaprak Alanı

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin bayrak yaprak alanı üzerindeki etkileri Şekil 4.49’de sunulmuş olup, bazı deneme gruplarının bayrak yaprak alanlarının ölçümü Şekil 4.50’de gösterilmiştir. Bayrak yaprak alanına ilişkin yapılan değerlendirmeler sonucunda, %100 AN gübresi uygulanan grupta ortalama bayrak yaprak alanı 7.25 cm² olarak ölçülmüş ve bu değer, negatif kontrol grubuna ait ortalama değer olan 4.68 cm² ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). %100AN+MG uygulamalarında 6.43 cm² ile ölçülürken, %100 AN grubuna göre istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0.05$). Bununla birlikte, %100 AN uygulamasına Mikrobiyal gübre içeriğindeki izolatların eklenmesiyle farklı sonuçlar elde edilmiştir. %100 AN + TSR3A-34 grubunda bayrak yaprak alanı 11.9 cm² ile en yüksek değere ulaşırken,

TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit izolatlarının eklendiği gruplarda bu değerler sırasıyla 9.9 cm², 8.7 cm² ve 5.0 cm² olarak ölçülmüştür. Özellikle PGB_invit izolatının bayrak yaprak alanını azaltıcı yönde etkiye bulunduğu görülmüştür. Ayrıca, %100 AN + MG (TSR3A-34 + TSR5B-129, TSR5B-131, PGB_invit) grubunda bayrak yaprak alanı 6.43 cm² olarak ölçülmüş ve bu değer, %100 AN tek başına uygulanan gruba göre daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde, %75 ve %50 AN gübre düzeylerinde de mikrobiyal gübre uygulamalarının bayrak yaprak alanı üzerinde azaltıcı etki gösterdiği görülmüştür.



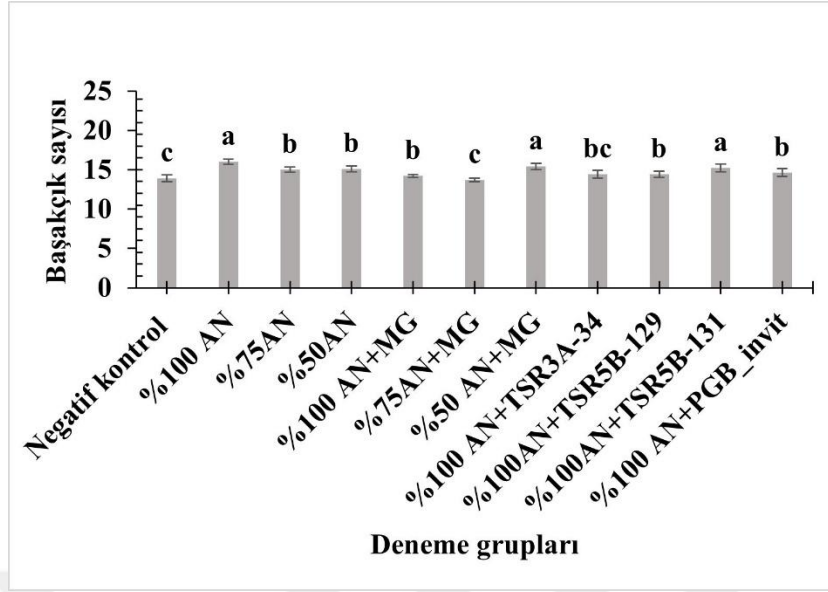
Şekil 4.49: Bayrak yaprak alanları. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.50: Bazı deneme gruplarının bayrak yaprak alanlarının ölçümü. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre. A) Negatif kontrol grubu, b) %100 AN içeren grup, c) %75 AN+MG içeren grup.

4.10.4.3. Başakta Başakçık Sayısı

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin başakta başakçık sayıları üzerindeki etkileri **Şekil 4.51** 'de sunulmuştur. Başakçık sayısı bakımından en yüksek değer, 16 adet ile %100 AN uygulamasında elde edilmiştir. Bu uygulamayı ortalama 15.4 adet ile %50 AN + MG grubu takip ederken, en düşük değerler 13.9 adet ile negatif kontrol ve 13.7 adet ile %75 AN + MG grubunda belirlendi. %100 AN uygulamasına MG veya tek üyelerinin eklenmesi başakçık sayısında genel olarak azalma oluşturmuş ve TSR3A-34 (14.4 adet), TSR5B-129 (14.4 adet) ve PGB_invit (14.6 adet) ile uygulanan gruplarda bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Buna karşın, TSR5B-131 ile uygulanan grupta (15.2 adet) anlamlı farklılık görülmedi. Bu sonuçlar, Mikrobiyal gübrelerin başak gelişimi üzerindeki etkilerinin izolatın türüne ve azot düzeyine bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir.

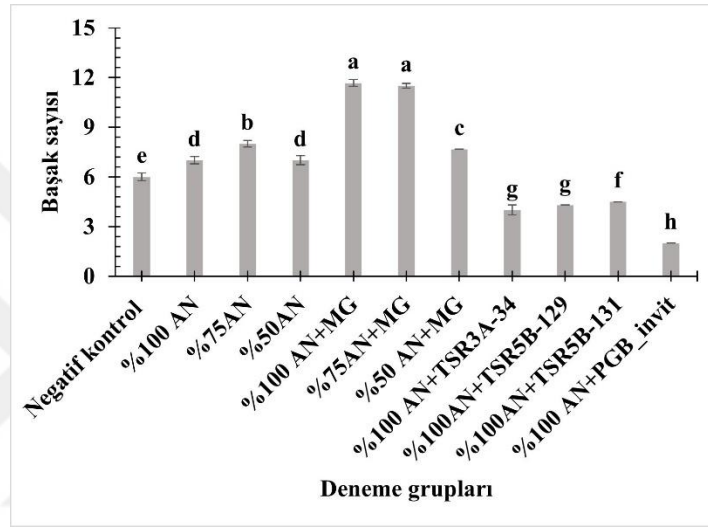


Şekil 4.51: Başakta başakçık sayıları. AN : Amonyum nitrat, MG :Mikrobiyal gübre (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

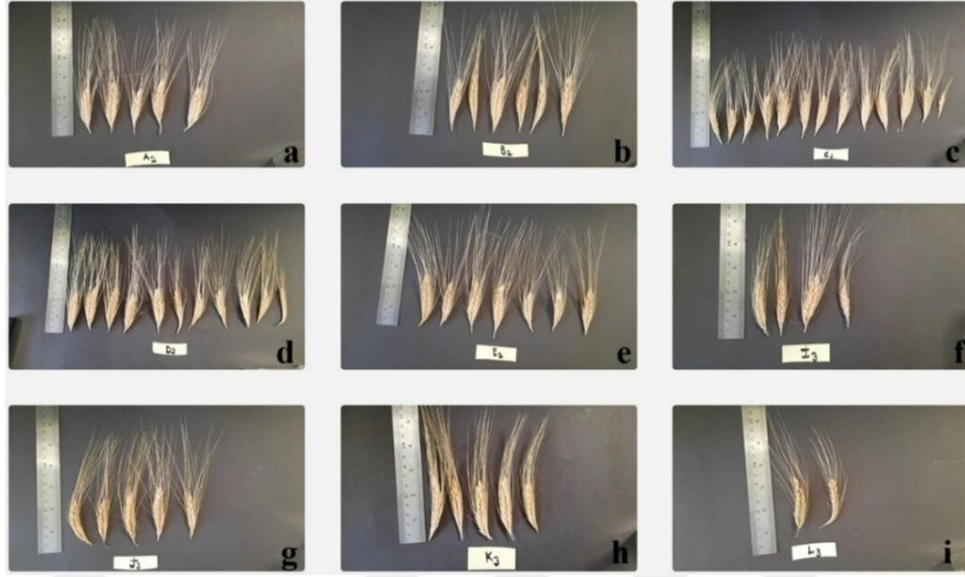
4.10.4.4. Başak Sayısı

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin başak sayıları üzerindeki etkileri **Şekil 4.52** 'de sunulmuş olup, başak sayıları **Şekil 4.53** 'da gösterilmiştir. Başak sayısı bakımından en yüksek ortalama değer, %100 AN + MG uygulanan grupta (11.67 adet) tespit edilmiştir. Bu grubu %75 AN + MG uygulanan grup takip etmiş olup (11.5 adet), bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0.05$). En düşük başak sayısı ise %100 AN + PGB_invit uygulanan grupta gözlemlenmiş ve ortalama 2 adet olarak belirlendi. Negatif kontrol grubunda ortalama başak sayısı 6 adet olarak belirlenmişken, yalnızca %100 AN uygulanan grupta bu değer 7 adet başak tespit edildi. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p < 0.05$). %75 AN uygulanan grupta başak sayısı ortalama 8 adet iken, aynı oranda azotlu gübreye MG ilavesi yapılan grupta başak sayısı anlamlı düzeyde artarak 11.5 adede ulaşmıştır ($p < 0.05$). Bu durum, azotlu gübrenin %25 oranında azaltılmasıyla birlikte MG uygulamasının başak sayısında önemli bir artış sağladığını göstermektedir. Benzer şekilde, %50 AN uygulanan grupta başak sayısı 7 adet olarak belirlenmişken, aynı dozda azotlu gübreye MG ilavesi yapılan grupta bu değer 7.65

adede yükseldi ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca %100 AN uygulamasına ilave olarak Mikrobiyal gübre içeriğindeki izolatların tekli olarak uygulandığı gruplarda başak sayısında düşüşler gözlemlendi. Sırasıyla TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit uygulanan gruplarda ortalama başak sayıları sırasıyla 4, 4.3, 4.5 ve 2 adet olarak belirlendi. Bu veriler, söz konusu mikrobiyal izolatların bu oranda Azotlu gübre ile tekli uygulamalarının başak oluşumunu olumsuz etkilediğini göstermektedir.



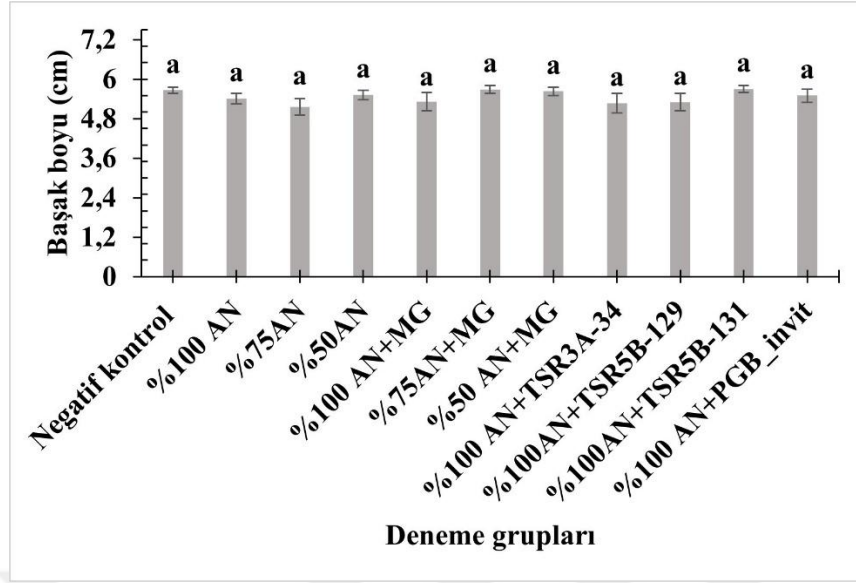
Şekil 4.52: Başak sayıları. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre (TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.53: Deneme gruplarına ait başak sayılarının karşılaştırmalı görünüşleri. A) Negatif kontrol, b) %100 AN içeren grup, c) %100 AN+MG içeren grup, d) %75 AN+MG içeren grup, e) % 50 AN+ MG içeren grup, f) %100 AN+ TSR3A-34 içeren grup, g) %100 AN +TSR5B-129 içeren grup, h) %100 AN+TSR5B-131 içeren grup, ı) %100 AN+ PGB_invit içeren grup. AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.5. Başak Boyu

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin başak boyları üzerindeki etkileri **Şekil 4.54'** gösterilmiş olup, başak boyu görünüşleri **Şekil 4.55'**de gösterilmiştir. Denemede yer alan gruplar arasında en uzun başak boyu, 5.69 cm ile %75 AN + MG kombinasyonunun uygulandığı grupta ölçülürken; en kısa başak boyu ise 5.16 cm ile yalnızca %75 AN uygulanan grupta görülmüştür. Ancak, bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$). **Şekil 4.55'**de de gösterildiği üzere, diğer tüm uygulama grupları arasında da başak boyu uzunlukları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu bulgular, başak boyunun büyük ölçüde genetik faktörlerin kontrolü altında olduğunu ve çevresel ya da gübre uygulamalarının başak boy uzunluğuna anlamlı düzeyde etkilemediğini göstermektedir.



Şekil 4.54: Başak boy uzunlukları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığını göstermektedir ($p > 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

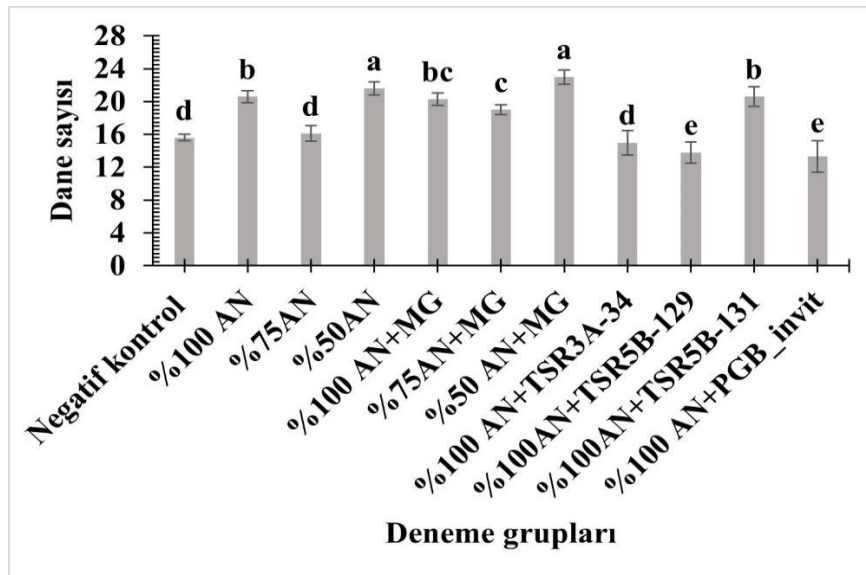


Şekil 4.55: Bazı deneme gruplarına ait başak boy uzunlukları görünüşleri.

4.10.4.6. Başakta Dane Sayısı

Buğday bitkisinde farklı amonyum nitrat uygulama düzeyleri (%) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin başakta dane sayıları üzerindeki etkileri **Şekil 4.56**'da sunulmuştur. Deneme gruplarında başakta dane sayısı incelendiğinde, en yüksek ortalama 23 adet ile %50 AN + MG uygulanan grupta tespit edilmişken; en düşük ortalama dane sayısı ise 13.3 adet ile %100 AN + PGB_invit uygulanan grupta gözlenmiştir. Negatif kontrol grubunda ortalama dane sayısı 15.6 adet olarak belirlenmişken, %100 AN uygulanan grupta ise bu değer 20.6 adede yükselmiştir. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p < 0.05$). %75 AN uygulanan grupta ortalama dane sayısı 16.1 adet olarak belirlenmiş

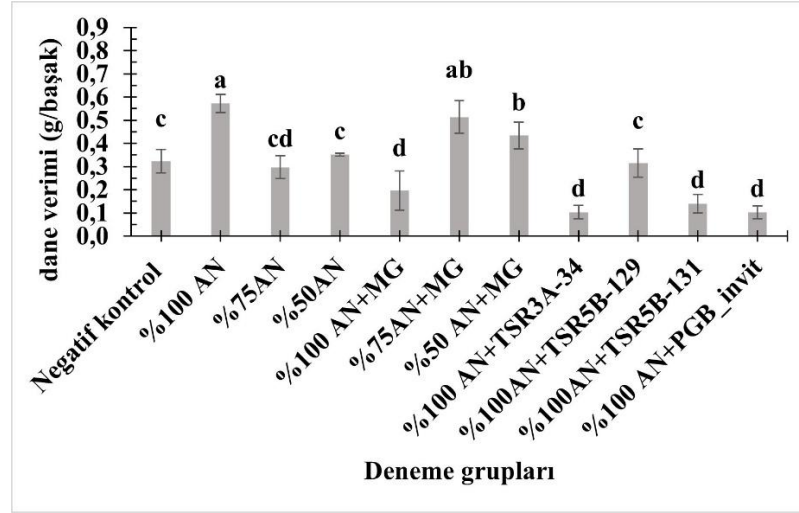
olup, bu değer negatif kontrol grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p>0.05$). Aynı dozda azot uygulanmış ancak MG ilavesi yapılan %75 AN + MG grubunda ise ortalama dane sayısı 19.0 adet olarak tespit edilmiştir ve %75 AN grubuna kıyasla bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu sonuç, aynı doz azot uygulamasında MG ilavesinin dane sayısını artırdığını göstermektedir. Benzer şekilde, %50 AN uygulanan grupta ortalama 21.6 adet dane belirlenmişken, MG ilavesi ile bu sayı %50 AN + MG grubunda 23.0 adede yükselmiş ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, düşük doz azotlu gübreleme ile MG kullanımının dane sayısını artırıcı etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. %100 AN uygulanan grupta 20.6 adet ortalama dane sayısı belirlenmişken, aynı dozda azot ile mikrobiyal gübre içeriğindeki farklı bakteri izolatlarının tekli uygulamaları sonucunda dane sayılarında belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Bu kapsamda, TSR3A-34, TSR5B-129 ve PGB_invit içeren gruplarda sırasıyla 15.0, 13.8 ve 13.3 adet dane tespit edilmiş; bu grupların her biri %100 AN grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük sonuçlar vermiştir ($p<0.05$). Öte yandan, TSR5B-131 izolatı ile uygulanan grupta ortalama dane sayısı 20.6 olarak belirlendi ve bu değer %100 AN grubuyla istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği ve artış eğiliminde olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.56: Başakta dane sayıları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.7. Başak Başına Dane Verimi

Deneme grupları arasında başak başına dane verimi değerlendirildiğinde, elde edilen değerlerin 0.10–0.57 g/başak aralığında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.57). En yüksek dane verimi, %100 AN 0.57 g/başak olarak tespit edilmiştir. Buna karşın, en düşük verim, %100 AN' ye ek olarak PGB_invit izolatu uygulanan grupta 0.10 g/başak olarak kaydedilmiştir. %100 AN uygulamasıyla karşılaştırıldığında, aynı düzeyde azotlu gübreleme ile MG uygulanan grupta verimin 0.20 g/başak'a düştüğü gözlenmiş ve bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Bu durum, MG'nin yüksek doz azot koşullarında verimi baskılayabileceğini düşündürmektedir. Buna karşın, %75 AN uygulanan grupta başak başına dane verimi 0.30 g olarak ölçülmüşken, aynı azot düzeyinde MG ile uygulandığında bu değer 0.51 g/başak'a yükselmiştir. Benzer şekilde, %50 AN içeren grupta 0.35 g/başak olan verim, MG ilavesiyle 0.43 g/başak'a çıkmıştır. Her iki artış da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0.05$) ve mikrobiyal uygulamaların özellikle belirli azot koşullarında dane verimini destekleyebileceğini ortaya koymuştur. Tekli izolat uygulamaları incelendiğinde ise, %100 AN gübrelemesine ek olarak TSR3A-34, TSR5B-129, TSR5B-131 ve PGB_invit izolatları ile elde edilen başak başına dane verimi sırasıyla 0.10, 0.31, 0.14 ve 0.10 g/başak olarak ölçülmüştür. Bu değerler, %100 AN grubuna kıyasla belirgin düşüş göstermiş olup, aradaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bu durum, mikrobiyal uygulamalarda belirli azot düzeyinde verimi etkileyebildiği, yüksek dozlarla uygulandıklarında ise verimi olumsuz etkileyebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.57: Başakta dane verimi (g/başak). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

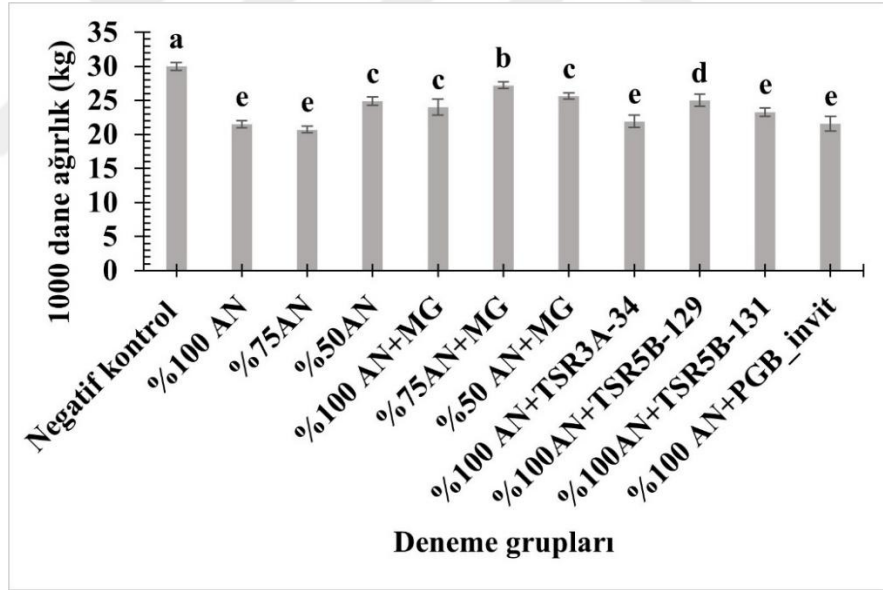
4.10.4.8. Bin Dane Ağırlığı, Nem Miktarı, Dane Boyutu ve Sertlik Değerinin Sonuçları

Buğday bitkisinde farklı oranlarda uygulanan amonyum nitrat (% düzeyleri) ile mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarını içeren iki faktörlü denemenin, bin dane ağırlıkları, dane nem içerikleri, dane boyutları ve dane sertlik değerleri üzerindeki etkileri sırasıyla Şekil 4.58, Şekil 4.59, Şekil 4.60 ve Şekil 4.61’ de gösterilmiştir.

4.10.4.9. 1000 Dane Ağırlıkları

Deneme gruplarında buğdayların 1000 dane ağırlıkları incelendiğinde, değerlerin 20.7 ile 30.0 kg arasında değiştiği belirlenmiştir. En yüksek 1000 dane ağırlığı negatif kontrol grubunda ölçülmüş olup, bu grup ile %100 AN uygulanan grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($p < 0.05$). %100 AN grubunda 1000 dane ağırlığı 21.5 kg olarak ölçülmüş, bu durum yüksek azot uygulamasının bazı durumlarda 1000 dane ağırlığını olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. %75 AN uygulanan grupta 1000 dane ağırlığı 20.7 kg iken, aynı düzeyde azot içeren ve MG ile desteklenen grupta bu değer 27.2 kg’ a yükseldiği görüldü. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı olup ($p < 0.05$) biyolojik açıdan da pozitif bir etkidir; bu durum MG uygulamasının bitki tarafından azotun daha etkin kullanımını sağladığını ve

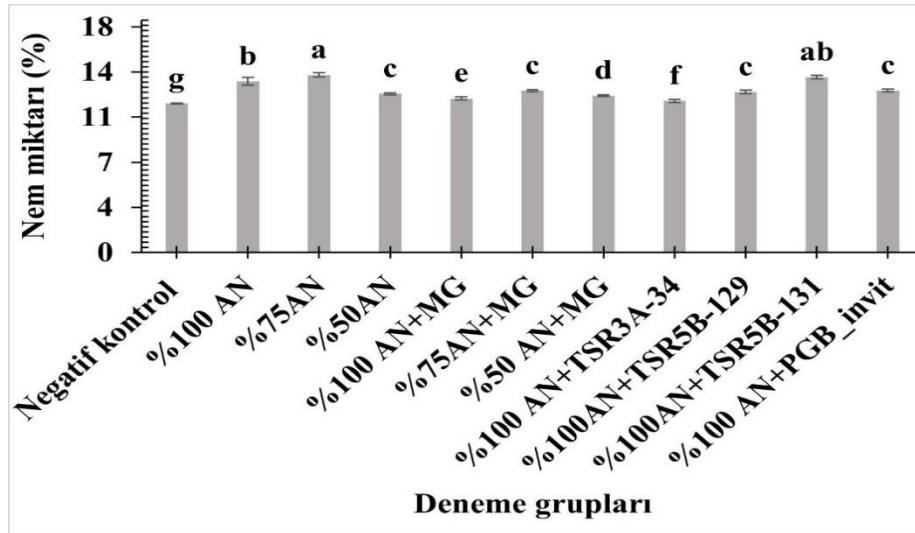
dolayısıyla dane gelişimini olumlu etkilediğini göstermektedir. %50 AN uygulamasında MG katkısı daha sınırlı bir artışa neden olmuştur. %50 AN uygulanan grupta 1000 dane ağırlığı 24.9 kg iken, MG içeren eşdeğer grupta bu değer 25.6 kg olmuştur. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu sonuç, MG ‘nin düşük azot düzeylerinde kısmi bir katkı sağladığını ancak, istatistiksel olarak anlam ifade etmediğini göstermektedir. %100 AN ile aynı azot oranına sahip ancak mikrobiyal konsorsiyumun tekli üyeleriyle oluşturulan uygulamalarda 1000 dane ağırlıkları sırasıyla (TSR3A-34, TSR5B-131 ve PGB_invit) 21.9 kg, 23.3 kg ve 21.6 kg olarak belirlendi. Bu değerlerin tamamı %100 AN grubundan yüksek olmasına karşın, sadece TSR5B-129 uygulaması ile elde edilen 25.0 kg’lık 1000 dane ağırlığı değeri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık göstermiştir ($p < 0.05$). Bu bulgu, TSR5B-129 izolatının 1000 dane ağırlığı üzerine anlamlı ve olumlu bir etkisinin olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.58: 1000 dane ağırlıkları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN: Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.10. Nem Miktarı (%)

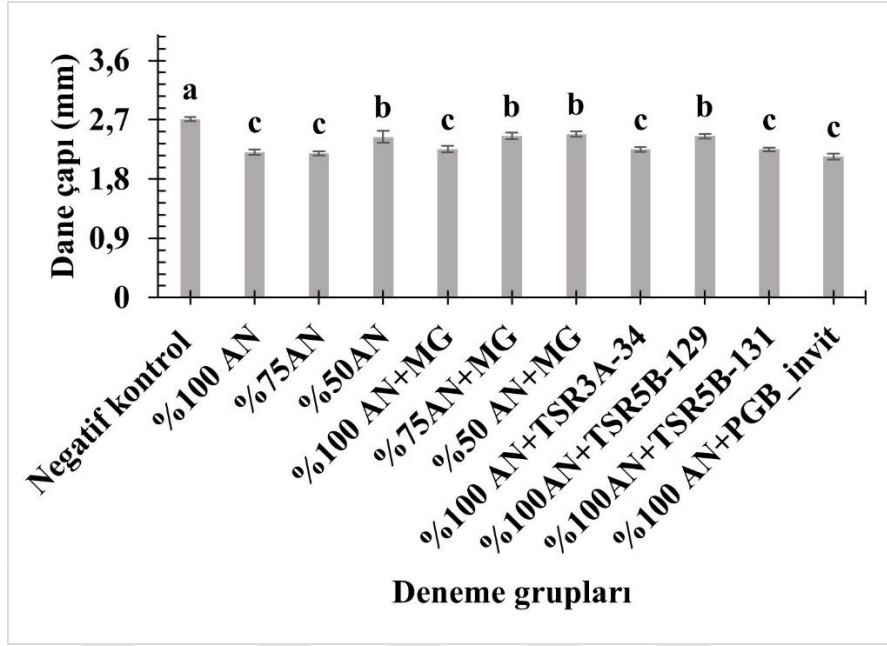
Deneme grupları içerisinde nem miktarları %11.6-%13.8 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.59). En yüksek nem içeriği %75 AN (%13.8) iken, en düşük Negatif kontrol (%11.6) grubunda belirlenmiştir. %100 AN içeren grup (%13.3) iken, aynı doz azotlu gübreleme ile MG uygulanan grupta (%11.9) olarak belirlenmiş olup, bu azalmanın istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık olduğu saptanmıştır ($p<0.05$). %75AN içeren grup (%13.8) iken, aynı doz azotlu gübreleme ile MG eklenen grupta ise (%12.5) olarak belirlenmiş olup, bu azalmanın istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.05$). %50AN içeren grupta (%12.3) iken, %50AN+MG içeren grupta ise (%12.2) olarak belirlenmiş olup aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık olduğu görüldü ($p<0.05$). %100 AN ile aynı doz azotlu gübreleme ile tek izolat uygulamalarında TSR5B-131 içeren grupta (%13.6) olarak belirlenmiş olup aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Diğer gruplarda ise TSR3A-34 (%11.8), TSR5B-129 (12.4) ve PGB_invit (%12.6) olarak belirlenmiş olup, aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Bu bulgular azotlu gübreleme ile MG kullanımının danenin olgunlaşma süresini hızlandırdığı, bu durum tekli izolatlar uygulandığında da izolat türüne göre değişmekle birlikte genel olarak azalttığı düşünülebilir.



Şekil 4.59: Nem miktarı (%). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.11. Dane Boyutu

Deneme gruplarında buğday danelerinin çapları 2.14 - 2.71 mm arasında değiştiği görüldü (Şekil 4.60). En yüksek dane çapı, negatif kontrol grubunda (2.71 mm) gözlemlenmiş olup, bu grup ile %100 AN uygulanan grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). %100 AN grubunda ölçülen 2.21 mm'lik değer, azot düzeyinin artırılmasının dane çapını kısıtlayıcı bir etkisi olabileceğini ortaya koymaktadır. %75 AN uygulanan grupta dane çapı 2.19 mm olarak belirlenirken, aynı azot seviyesindeki MG ile desteklenen grupta dane çapı 2.45 mm'ye arttığı görüldü. Bu fark, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Bu sonuç, mikrobiyal konsorsiyumların bitki gelişimini iyileştirebileceğini ve özellikle azotun etkin kullanımını artırarak dane büyüklüğüne olumlu etki yapabileceğini göstermektedir. Burada, mikrobiyal konsorsiyumların özellikle azotun biyo-erişebilirliğini artırarak bitkilerin daha verimli büyümesini sağladığı düşünülebilir. %50 AN uygulanan grupta dane çapı 2.44 mm olarak ölçülürken, aynı azot düzeyine sahip ve MG içeren grup 2.48 mm'ye ulaştığı. Ancak, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Bu bulgu, düşük azot düzeylerinde mikrobiyal konsorsiyumların sınırlı bir etkisi olduğunu ve bu seviyelerde azotun bitki gelişimi için zaten yeterli olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, %50 AN düzeyinde mikrobiyal destek, daha yüksek azot düzeylerinde olduğu kadar belirgin bir gelişim sağlamamış olabilir. %100 AN ile aynı azot oranına sahip ancak mikrobiyal konsorsiyumun tekli üyeleriyle oluşturulan uygulamalarda dane çapları sırasıyla TSR3A-34 (2.25 mm), TSR5B-131 (2.25 mm) ve PGB_invit (2.14 mm) olarak ölçülmüştür. Bu gruplar arasında %100 AN içeren grup ile anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0.05$). Ancak, TSR5B-129 izolatu ile yapılan uygulamada dane çapı 2.45 mm olarak belirlenmiş ve bu değer, %100 AN içeren grup ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermiştir ($p < 0.05$). Bu bulgu, TSR5B-129 izolatının dane çapı üzerine anlamlı bir olumlu etkisi olduğunu ve bu izolatın buğdayın gelişimi üzerinde pozitif bir katkı sağladığını düşündürmektedir. Bu genel bulgular, mikrobiyal konsorsiyumların özellikle azot düzeylerinin düşük veya orta seviyelerde olduğu durumlarda dane çapını artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, azot uygulama düzeyinin yüksek olduğu durumlarda mikrobiyal konsorsiyumların ek etkisinin daha sınırlı olduğunu ve yüksek düzeydeki kimyasal azotun dane çapı üzerinde baskın bir etkisi olabileceğini ortaya koymaktadır.

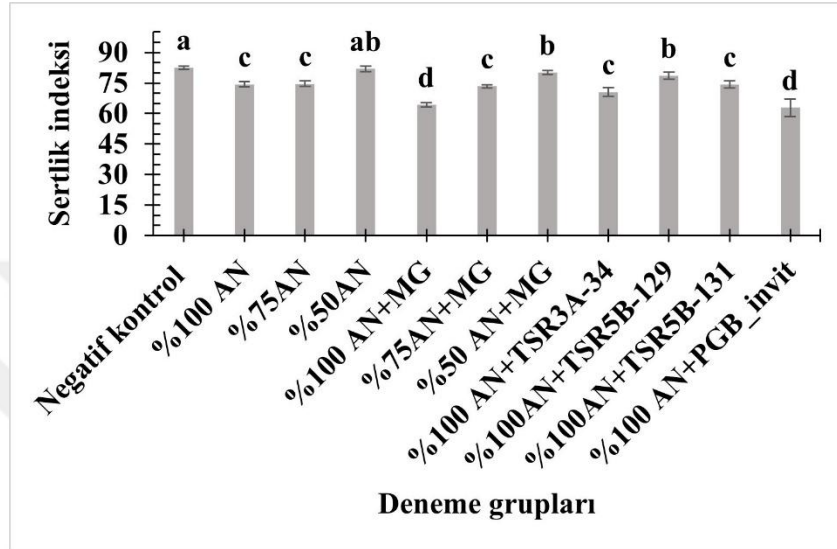


Şekil 4.60: Dane çapları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre

4.10.4.12. Sertlik İndeksi

Deneme gruplarında dane sertlik indeks değerlerinin 62.8 ile 82.5 arasında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.61). En yüksek sertlik indeksi 82.5 ile negatif kontrol grubunda saptanmıştır. Buna karşılık, %100 AN içeren uygulama grubunda sertlik indeksi 74.3 olarak ölçülmüş olup, bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu sonuç, yüksek dozda azotlu gübre uygulamasının dane sertliği üzerinde azaltıcı bir etki oluşturabileceğini göstermektedir. %75 AN içeren grup ile aynı düzeyde azotlu gübre ile MG içeren grup arasında sertlik indeksi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p > 0.05$). Benzer şekilde, %50 AN uygulaması ile aynı azot düzeyinde gübre ile MG içeren grup arasında da sertlik bakımından anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). %100 AN uygulamasına karşılık gelen azot miktarını içeren mikrobiyal konsorsiyumun tekli üyeleri ile oluşturulan uygulama gruplarında, TSR3A-34 ve TSR5B-131 izolatlarını içeren gruplarda sertlik indeksinde anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Ancak, TSR5B-129 izolatının yer aldığı uygulama grubunda sertlik indeksinde istatistiksel olarak anlamlı

bir artış, PGB_invit izolatının yer aldığı grupta ise istatistiksel bakımından anlamlı bir azalma görülmüştür ($p<0.05$). Bu bulgular, dane sertlik indeksinin yalnızca uygulanan azot düzeyine değil, aynı zamanda kullanılan mikrobiyal izolatın türüne bağlı olarak da değişebileceğini ortaya koymaktadır.

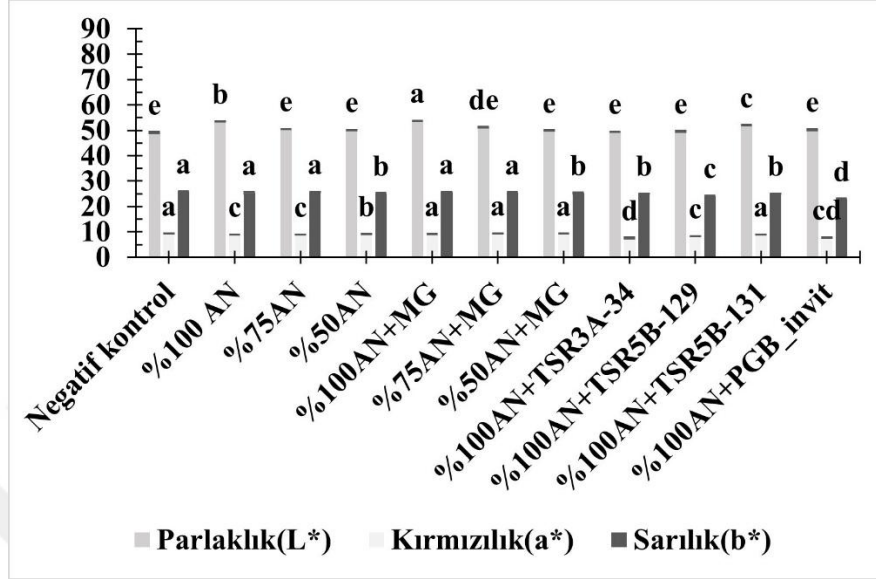


Şekil 4.61: Sertlik İndeksi. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.13. Renk Değeri (L^* , a^* , b^*)

Deneme grupları içerisinde buğday danede (kıırma) L^* değerlerinin 49.5-52.8 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.62). En yüksek değer %100AN+MG (52.8) içeren grupta iken en düşük değer ise %100AN+TSR3A-34 (49.5) olan grupta ölçülmüş olup, L^* değerinin gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0.05$). Deneme grupları içerisinde a^* değerlerinin 7.57-9.35 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.64). En yüksek değer %75AN+MG (9.35) içeren grupta iken, en düşük değer ise %100AN+TSR3A-34 (7.57) olan grupta ölçülmüş olup, a^* değerinin gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0.05$). Deneme grupları içerisinde b^* değerleri 22.9-25.9 arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.64). En yüksek değer Negatif kontrol grubunda (25.9) iken, en düşük değer ise %100AN+ PGB_invit (22.9) olan grupta ölçülmüş

olup, b* değerinin gruplar arasında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmüştür ($p<0.05$).

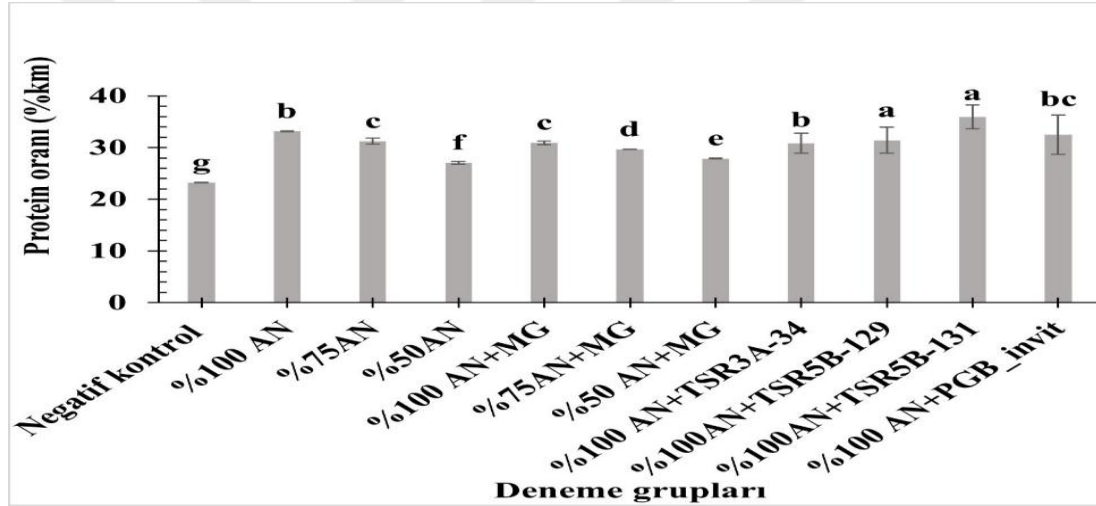


Şekil 4.62: Buğday dane(kırma) renk değerleri (L*,a*,b*). Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p<0.05$). AN: Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.14. Protein Oranı Tayini (%km)

Deneme gruplarında ölçülen protein oranları %23.2 ile %35.95 arasında değişim göstermiştir (Şekil 4.63). En yüksek protein içeriği TSR5B-131 grubunda (%35.95) belirlenirken, en düşük değer negatif kontrol grubunda (%23.2) belirlendi. %100 AN uygulanan grupta protein oranı %33.16 olarak belirlenirken, aynı dozda azot gübresi içeren ancak MG ile kullanılan grupta ise bu değer %30.91'e düştüğü görüldü. Bu gruplar arasında gözlemlenen farklılık istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0.05$). %75 AN içeren grupta protein oranı %31.23 olarak belirlenirken aynı doz azot gübresi ile MG içeren grupta ise bu değer %29.65 olduğu görüldü. Elde edilen veriler özellikle MG içeren uygulamanın, eşit azot dozuna rağmen protein içeriğini düşürmesi, azotun bitki tarafından alımı, metabolik aktiviteleri veya MG' nin fizyolojik etkileriyle ilişkili olabileceği düşünülebilir. %50 AN içeren grupta %27.04 olarak ölçülmüşken, aynı doz azot gübresi ile MG içeren grupta ise %27.88 olarak artış göstererek istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$). Bu

durum azotlu gübrelemenin belli dozlarda MG ile kullanılmasının protein değerini arttırıcı yönde rol oynayacağını göstermektedir. %100 AN içeren grupta %33.16 olarak belirlenmişken, TSR3A-34 ve PGB_invit içeren gruplarda ise sırasıyla %30.81 ve %32.49 olarak ölçülürken, aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık görülmedi ($p>0.05$). Bu durum bu izolatlar ile yüksek düzeyde azotlu gübre eklenmesinin protein değerlerine etki etmediğini göstermişken TSR5B-129 ve TSR5B-131 izolatlarını içeren grupların sırasıyla protein değerleri %31.41 ve %35.95 olarak saptanmış olup, %100 AN içeren gruba göre protein oranlarında artış gösterdikleri ve aralarında istatistiksel bakımından anlamlı bir farklılık olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Bu durum bu izolatların yüksek düzeyde azotlu gübre eklenmesinin protein değerlerine etki ettiğini göstermiştir.

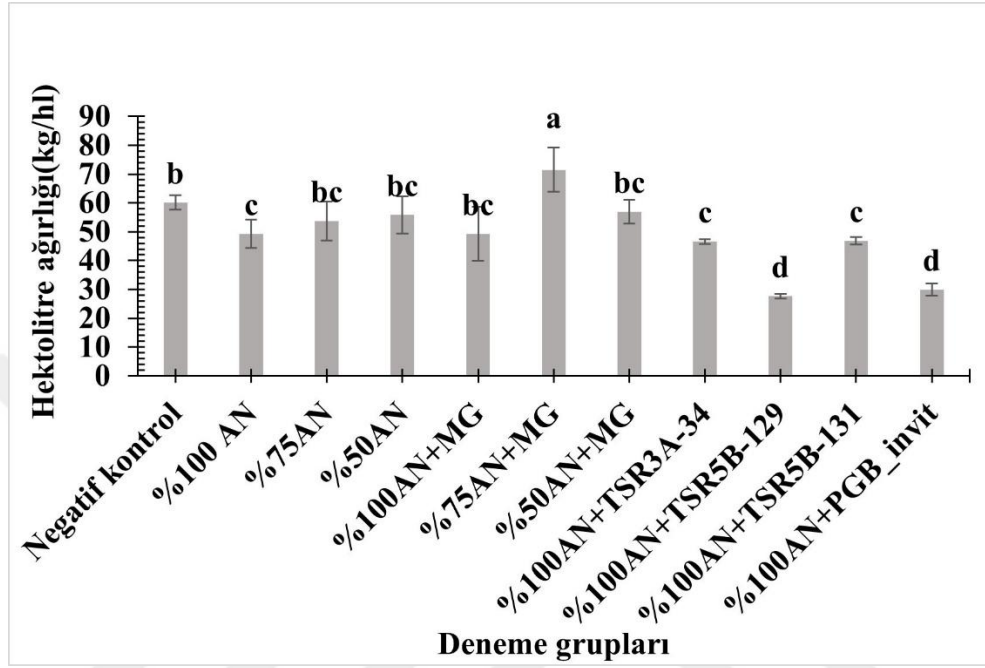


Şekil 4.63: Protein oranları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

4.10.4.15. Hektolitre Ağırlığı

Deneme grupları arasında Hektolitre ağırlıkları 27.6-71.5 kg/hl arasında değiştiği görülmüştür (Şekil 4.64). En yüksek Hektolitre ağırlığı %75AN+MG içeren grupta görülmüşken, en düşük ise %100AN+TSR5B-129 içeren grupta belirlendi. %75 AN içeren grup ile aynı azotlu gübreleme ile Mikrobiyal konsorsiyum içeren grupta istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p<0.05$). %100 AN içeren grup ile

Konsorsiyum üyelerinin tekli uygulamalarını içeren gruplar (TSR3A-34 ve TSR5B-131) arasında anlamlı bir farklılık görülmezken, TSR5B-129 ve PGB_invit içeren tekli uygulamalarda anlamlı düzeyde azalma görüldü ($p < 0.05$).



Şekil 4.64: Hektolitre ağırlıkları. Veriler, ortalama değerleri göstermekte olup; sütunlar üzerindeki harfler, gruplar arasındaki istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$). AN : Amonyum nitrat, MG : Mikrobiyal gübre.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Çiftçiler, politika yapıcılar ve araştırmacılar, iklim değişikliğinin mısırdan sonra dünyanın en büyük ikinci tahıl ürünü olan buğdayın verimliliği üzerindeki potansiyel etkileri konusunda endişe duymaktadır [Zhang vd., 2022]. Küresel ısınma nedeniyle yağış desenlerindeki değişiklikler, buğdayın büyüme aşamalarını ve verimini etkileyebilir [Elahi vd., 2022]. Tüm bu nedenlerden dolayı, bu tez çalışması kapsamında Tekirdağ Süleymanpaşa ilçe sınırlarından 6 hububat ekim alanından 145 izolat elde edilmiş olup ön tanımlama testleri sonucunda 48 izolatin Bitki büyüme teşvik edici özellikleri (PGP) bakımından taranmıştır. 48 izolat içerisinde en iyi bitki büyüme teşvik edici özellikleri gösteren 6 izolat belirlenmiştir. Seçilen 6 izolata TSR3A-34, TSR4A-51, TSR3B-106, TSR5B-129, TSR5B-131 ve TSR6B-135'e 16SrDNA ve biyokimyasal testler yapılmış olup sırasıyla olup, tür bazında tanımlanmıştır. BLAST sonuçlarına göre TSR3A-34 izolatu %100; TSR4A-51 izolatu %100; TSR3B-106 izolatu %97.33; TSR5B-129 %100, TSR5B-131 %95.64 ve TSR6B-135 %100 benzerlik oranları olup sırasıyla *Stenotrophomonas maltophilia*, ; *Bacillus* sp.; *Pseudomonas koreensis*; *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas* sp. türlerinden oluşmaktadır. Bitki Büyüme Teşvik edici özellerinin belirlenmesi amacıyla yapılan testlerde TSR3A-34 izolatu; *S. maltophilia* 'nın, en etkili azot fikse edici özelliğe sahip olduğundan mikrobiyal konsorsiyum gruplarına dahil edilmiştir. Bu özellik bakımından diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür [Park vd., 2005, Awasthi vd., 2011; Gopalakrishnan vd., 2017; Alexander vd., 2019]. *Bacillus* sp., en yüksek indol asetik asit üretme özelliğine sahip olduğundan seçilmiş olup, bu özellik bakımından önceki çalışma ile uyumlu olduğu görülmüştür [Shim vd., 2015]. En yüksek fosfat çözünürlüğüne sahip olan TSR3B-106 izolatu; *P. koreensis*, bu özelliği nedeniyle mikrobiyal konsorsiyum gruplarına dahil edilmiştir. Bu bulgu, önceki bir çalışmanın sonuçlarıyla da uyumludur [Blanco-Vargas vd., 2020]. İzolatlar arasında en belirgin biyofilm üretme kapasitesine sahip olan TSR5B-129 izolatu; *B. amyloliquefaciens* ' in bu sonuç ile Wang vd., (2019) tarafından yapılan önceki bir çalışmayla tutarlıdır. En yüksek siderofor üretim kapasitesine sahip TSR5B-131 izolatu; *B. subtilis* olarak belirlenmiş olup mikrobiyal konsorsiyum gruplarına dahil edilmiştir ve elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla uyumludur [Ghazy ve Nahrawy 2020], TSR6B-135 izolatu; *Pseudomonas* sp., en güçlü HCN

üretim kapasitesine sahip izolat olarak tanımlanmış ve elde edilen sonuçlar önceki çalışmalarla uyumlu bulunmuştur [Ben Zineb vd., 2020; Güler ve Ögütçü, 2024]. Mikrobiyal konsorsiyum oluşturma'nın ilk adımı, konsorsiyum üyelerinin uyumluluğunu belirlemektir. Bunun yapılmaması, antagonistik etkiler nedeniyle mikrobiyal konsorsiyumların etkinliğini azaltabilir [Khan vd., 2022]. Bu çalışmada, mikrobiyal konsorsiyum grupları, izolatlar arasında yapılan uyumluluk testinin ardından oluşturulmuştur. En yüksek PGP aktivitesine sahip altı izolat arasında yapılan uyumluluk testi, TSR6B-135 izolatı; *Pseudomonas* sp.'nin diğer izolatlar üzerinde antagonistik etki gösterdiği görülmüştür. Bu antagonistik etkinin TSR6B-135 izolatı; *Pseudomonas* sp.'nin güçlü HCN üretim kapasitesine bağlı olabileceği ve bu nedenle diğer izolatlarla uyumsuz olmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Son yıllarda, mikrobiyal konsorsiyumlarla inokülasyonun, farklı izolatlardan türeyen konsorsiyum üyeleri arasındaki sinerjik etkileşimler nedeniyle tek suşlu inokülasyona göre daha etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, mikrobiyal konsorsiyum üyelerinin tamamlayıcı özellikleri, farklı çevresel faktörlere karşı bir avantaj sağlayabilir [Mamun vd., 2024]. Bu olgu, tek suşlu inokülasyonların değişken etkileri ve dış faktörlerin etkisiyle açıklanabilir [Bradáčová vd., 2019]. Toprak mikrobiyal çeşitliliği, dış faktörlerin etkilerini hafifletmede, tarımsal uygulamaların uzun vadeli sürdürülebilirliğini sağlamada ve tarımsal faaliyetlerin hızlanmasına yardımcı olma konusunda önemli bir rol oynamaktadır [Aguilar-Paredes vd., 2020]. Mikrobiyal konsorsiyum gruplarına dahil edilmesi planlanan altı izolat üzerinde uyumluluk testleri yapılmıştır. Uyumluluk testinin tamamlanmasının ardından, beş izolat ile 20 farklı konsorsiyum grubu oluşturulmuştur. Bu gruplar, ikili, üçlü, dördü, beşli konsorsiyumlar ve bir kontrol grubunu içermektedir. İnkübasyondan altı hafta sonra, buğday bitkilerinin büyüme parametreleri değerlendirilmiştir. Buğday bitkilerinin büyümesindeki önemli artış, PGP izolatlarının doğrudan ve dolaylı etkilerine bağlanabilir, çünkü bu bakteriler bitki büyümesini olumlu şekilde etkiler. Sonuçlar, TSR3A-34 izolatı; *S. maltophilia*, TSR5B-129 izolatı; *B. amyloliquefaciens* ve TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis* 'nin bulunduğu konsorsiyum grubunda, kontrol grubuna kıyasla buğday bitkilerinin büyüme parametrelerinde belirgin bir artış olduğunu göstermektedir. Buğday bitkilerinin büyümesindeki önemli artış, PGP bakterilerinin doğrudan ve dolaylı etkilerinin bir sonucudur ve bu bakteriler bitki büyümesini olumlu şekilde etkilemektedir [Olanrewaju vd., 2017]. Konsorsiyumdaki

azot fikse edici izolatlar, azot alımını artırarak buğday bitkilerinin gövde uzunluğu, büyümesi ve klorofil içeriğini önemli ölçüde artırmıştır. Bu gözlemler, bitkilerin kök bölgesindeki azot fikse edici bakterilerin, toplam azot içeriğini yükselterek yaprak büyümesini teşvik ettiğini ve fotosentez üzerinde olumlu bir etki yarattığını göstermektedir. Ayrıca, bu bulgular, yapraktaki azot içeriği ile klorofil miktarı arasında güçlü bir korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır [Bojović ve Marković, 2009]. Klorofil içeriğindeki artış, azot alımındaki yükselmenin bir sonucu olarak, TSR3A-34 izolatı; *S. maltophilia* ve TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis* 'nin etkisiyle ilişkili olabilir. Fosfat çözebilme kapasitesine sahip olan TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis*, üç izolatı içeren konsorsiyumda, topraktaki çözünmeyen organik ve inorganik fosfatları, bitkilerin erişebileceği bir forma dönüştürerek bitki büyümesine katkı sağlar [Olanrewaju vd., 2017]. Bacillus türleri, su taşıma yardımcıları ve patojen mikropların büyümesini baskılayan ekzopolisakkaritler ve sideroforlar üretir. Ayrıca, zararlı iyonların hareketini engelleyerek iyon dengesini korurlar [Hashem vd., 2019]. TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis* ve TSR5B-129 izolatı; *B. amyloliquefaciens*, 'in biyofilm oluşturabilme yeteneğine sahip olduğundan, bu da bitkilerin biyotik ve abiyotik streslere karşı korunmasına etki ederler [Wang vd., 2019]. Bu özellikler, bitki büyümesini, verimli besin kullanımını ve bitki sağlığını destekler [Kumar vd., 2021]. Sonuçlar, TSR3A-34 izolatı; *S. maltophilia* TSR5B-129 izolatı; *B. amyloliquefaciens* ve TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis* ile oluşturulan konsorsiyum uygulamalarında elde edilen buğday bitkilerinin büyüme parametrelerindeki sonuçlar; kontrol grubuna kıyasla boy uzunluğu (%4.81), sürgün kuru ağırlığı (%19.3) ve klorofil (SPAD) içeriğinde (%6.06) belirgin artışlar olduğunu göstermektedir. Bu konsorsiyumla inoküle edilen grupta gözlemlenen büyüme parametrelerindeki belirgin fark, bu bakteriyel suşlar arasındaki sinerjik etkileşimlerine bağlanabilir.

Ayrıca bu çalışmada, buğdayda büyüme parametreleri üzerinde etkili olan üç izolatı (TSR3A-34 izolatı; *S. maltophilia*, TSR5B-129 izolatı; *B. amyloliquefaciens* ve TSR5B-131 izolatı; *B. subtilis*) içeren Mikrobiyal konsorsiyum grubuna, daha önce laboratuvarımızın doku kültürü çalışmalarında alev ağacından (*Photinia × fraseri* Dress.) izole edilen ve altkültürleme yapmaksızın konukçusunun ömrünü 16 aya kadar uzatan ve kültür kabında köklenmesine yardımcı olan PGB_invit bakterisi de eklenerek buğday bitki üzerinde verim ve kalite üzerine etkileri çalışılmıştır. Bu çalışma ile dört adet bitki büyümesini teşvik edici bakterilerin, hem tek tek hem de

konsorsiyum halinde, farklı azot gübre konsantrasyonlarında buğday üretimi üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir.

Azotun, temel bir besin elementi olmakla birlikte, fotosentezde, bitki gelişiminde ve protein içeriği üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır [Feyisa vd., 2024; Fathi, 2022; Uyehara vd., 2024]. Azot uygulaması ile büyüme parametreleri arasındaki pozitif korelasyon göstermesi ile önceki çalışmalardaki sonuçlarla uyumlu bulunmuş olup, optimal bitki performansı için yeterli azot arzının kritik rolünü vurgulanmıştır [Luo vd., 2021; Drobitko ve Kachanova, 2023]. Ayrıca, yararlı özelliklere sahip mikroorganizmaların azot fiksasyonu, fito-hormon sentezi, biyofilm üretimi, siderofor oluşumu ve fosfor çözünürlüğü gibi mekanizmalar ile besin alımının artırılmasında etkili olduğu gibi, azot miktarının az olduğu durumlarda bile bitki büyümesini desteklediği bilinmektedir [Aryan vd., 2024; Wang vd., 2020]. PGPR ile muamele edilen bitkilerde, fotosentetik verimliliği artıran klorofil içeriğinin de yükseldiği gözlenmiştir, bu da daha yüksek biyokütle üretimine katkı sağlamaktadır.

Bitki boyu, buğdaylarda verimle ilgili çalışmalarda önemli ve aranılan bir parametre olduğundan bu süreçte oldukça önemlidir [Mutlu, 2022]. Işık ve toprak altında bulunan kaynaklarının sınırlı olmasından dolayı, bitkilerde rekabet ve hayatta kalma stratejileri önemli bir durum olduğundan Azotu ve fotosentez için gerekli ışığın kullanımını optimize etmek amacıyla bitkiler, ışığa erişimini arttırmak ve büyümelerini dengeleyebilmek için kök ve yaprak gelişimini azaltıp gövde uzamasını artırarak morfolojik adaptasyonlar geliştirmişlerdir [Uyehara vd., 2024]. Bu adaptasyon durumu, azot eksikliği koşullarında kök, sürgün ve yaprak yapısında değişiklikler yaparak buğdayın hayatta kalmasını sağlamaktadır [Wang vd., 2021]. Ayrıca, bitki stres durumunda gibberellik asit miktarının artabileceği ve bunun da bitki boyunun uzamasına neden olabileceği bildirilmiştir [Castro-Camba vd., 2022]. Bu adaptasyon, çalışmamızdaki negatif kontrol gruplarının daha uzun bitki boyuna sahip olmasının açıklaması olabilir.

Azot gübresinin bilinçli kullanımı, bitki büyümesini teşvik etme yeteneği sayesinde ürün verimini önemli ölçüde etkileyebilir [Kubar vd., 2022]. Sonuçlarımız, azot gübre uygulamasının kademeli artışı ile bitki boyu arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ve bunun önceki çalışmalarla uyumlu olduğunu göstermiştir [Luo vd., 2021; Drobitko ve Kachanova, 2023]. Buna ek olarak, bu çalışmada azot miktarının %25

ve %50 azaltılması, PGPR'nin telafi edici etkileri nedeniyle bitki boyu veya başak uzunluğunda anlamlı düşüslere yol açmamıştır. Uygulanan mikrobiyal konsorsiyum, azot gübrelemesinin neden olduğı toprak asitliğinde bitki büyümesini sürdürmede kayda değer bir etkinlik göstermiştir. Tek tür uygulamalarının etkisizliği, artan toprak asitliği nedeniyle bakteriyel aktivitenin baskılanması ve besin alımının engellenmesiyle açıklanabilir [Kumar, 2021; Wang, 2021]. Ancak konsorsiyum, işlevsel olarak tamamlayıcı üyeleri sayesinde besin kullanılabilirliğini artırarak bitki sağlığını desteklemiştir [Liu vd., 2023]. Bu durum, mikrobiyal konsorsiyumun azot seviyesindeki azalmanın olumsuz etkilerini hafifletip besin alım verimliliğini artırabileceğini göstermektedir.

İlginç şekilde, mikrobiyal konsorsiyum ile %75 azot uygulaması, %50 ve %100 azot uygulamalarına göre daha üstün bitki boyu uzaması sağlamıştır. Bu sonuçlar, mikrobiyal konsorsiyumun azotla birlikte kullanımında optimum sonuçlar için azot seviyelerinin iyi ayarlanması önemi ortaya koymaktadır. Ayrıca, mikrobiyal konsorsiyum üyelerinin tek tek uygulanması durumunda gözlenen daha belirgin bitki boyu azalmaları, konsorsiyum sinerjisinin önemi vurgulamaktadır; çünkü birleşik mikrobiyal topluluk, bireysel izolatlarla göre daha geniş bir faydalı fonksiyon yelpazesi sunmaktadır.

Ayrıca, bulgular azot uygulaması arttıkça protein içeriğinde de tutarlı bir artış olduğunu göstermiştir ve bu, azot mevcudiyeti ile dane kalitesi arasındaki olumlu ilişkiyi doğrulamaktadır [Wang vd., 2021]. Mikrobiyal gübre ve azot gübrelerinin birlikte kullanımı, verim ve kaliteyi artırırken çevresel etkileri azaltmaya yönelik sürdürülebilir bir strateji sunmaktadır. Bu çalışmadaki buğday danelerinin renk parametreleri (L^* , a^* ve b^*) tedavilerden önemli ölçüde etkilenmiştir. *Bacillus* türlerinin, azot alımını artırarak klorofil içeriğini yükselttiği bilinmektedir [Hosseinzadeh vd., 2011]. Çalışmamızda, negatif kontrol grubunda L^* (parlaklık) değerleri en yüksek olup danelerin daha parlak olduğunu göstermiştir. PGPR ve azot tedavileri ise L^* değerlerinde hafif azalma yaparak danelerin daha koyu renk almasına neden olmuştur ve bu sonuçlar önceki bulgularla uyumludur. Kırmızılık (a^*) değerlerinde küçük değişiklikler gözlenmiş, Mikrobiyal gübre ile muamele edilen daneler biraz daha az kırmızı pigmentasyon göstermiştir. Bu durum, mikroorganizmaların azot değişkenliği altında pigmentasyon dengesinde rol

oynadığını düşündürmektedir. Benzer şekilde, sarılık (b*) değerleri mikroorganizmaların uygulandığı gruplarda kontrol grubuna göre biraz daha düşük bulunmuş, muhtemelen mikroorganizmalara bağlı olarak karotenoid sentezi yollarında değişikliklerin etkisiyle ilişkilendirilebilir. Bu renk parametrelerindeki değişiklikler, Mikrobiyal gübre ve azot uygulamalarının buğday danelerinin görsel ve işleme özelliklerini etkileyebilecek ince biyokimyasal ve fizyolojik etkilerini göstermektedir.

Sonuçlar ayrıca, mikrobiyal konsorsiyumların özellikle azot seviyesinin azaltıldığı durumlarda hektolitre ağırlığını iyileştirmede etkili olduğunu göstermektedir. Öte yandan, tam doz azot altında belirli mikrobiyal suşların uygulanması, hektolitre ağırlığının hedefe yönelik artırılmasını sağlamış ve performans suşa bağlı olarak önemli farklılıklar göstermiştir. Bu bulgular, azot yönetimi stratejilerine uygun mikrobiyal uygulamalar seçiminin dane kalitesini optimize etmek açısından önemini ortaya koymaktadır.

Başak uzunluğu genetik faktörlerle belirlenir ve çevresel etkilerden nispeten daha hassastır [Galindo vd., 2017; Wang vd., 2023a]. Bu çalışma, tek bir *Triticum durum* desf. (Eminbey durum buğdayı) çeşidi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve uygulamalar arasında başak uzunluğunda anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Başak sayısı ve başaktaki başakçık sayısının buğday verimliliğinin önemli bileşenleri olduğu ve azot uygulamasıyla arttığı bildirilmiştir [Aryan vd., 2024]. Literatüre göre, azot uygulamalarının kademeli artışı ile başak sayısı arasında pozitif korelasyon vardır [Jamaati-e-Somarin vd., 2010; Wang vd., 2023a; Afroz vd., 2024; Aryan vd., 2024; Mu vd., 2024]. Mevcut çalışma da azot uygulamasının, %100 N gübrelili tedavi gruplarında başak sayısında artış sağladığını göstermiştir; ancak %50 ve %100 N gübreleme grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu durum, buğday bitkisinin azot alım kapasitesindeki doğal sınırlamalara bağlanabilir. Lamichhane vd., (2021)'nin yapmış olduğu çalışmada uygulanan azotun %30-50'sinin bitki tarafından emilebildiğini, geri kalanının su kaynaklarına veya atmosfere karışarak çevre kirliliğine yol açabileceğini bildirmiştir.

Aynı zamanda, bayrak yaprak alanının dane azotuna önemli katkı sağladığı, , başaklar ve gövdelerin de azot stresi durumlarında dane azotuna katkıda bulunabildiği raporlanmıştır [Sanchez-Bragado vd., 2017; Ju vd., 2022]. Literatürde, artan azot alımına bağlı olarak bayrak yaprak alanında kademeli bir artış gözlenmiştir [Kumari,

2011; Yang vd., 2018]. Bizim sonuçlarımız önceki çalışmalarla uyumlu olmakla birlikte, %100 N gübre uygulanan grupta bayrak yaprak alanında beklenen artış yerine azalma gözlenmiştir. Bu durum, buğdayın azotu öncelikle bitki boyu, kök gelişimi ve dane verimini artırmak için kullanmış olabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda, bayrak yaprak azot alımının daha sınırlı olması ve fotosentez ürünü yetersizliği nedeniyle yaprak alanının küçülmüş olması olasıdır.

Danelerdeki azot birikiminin, protein içeriği ile glutenin ve gliadin seviyeleri üzerinde pozitif etkisi olduğu gösterilmiştir [**Mariem vd., 2020**]. Gluten, elastik yapının sağlanmasından; gliadin ise esnekliğin sağlanmasından sorumludur [**Hao vd., 2023**]. Dane sertliği, genetik faktörler ve nişasta granülleri ile protein matrisi arasındaki etkileşimle belirlenir ve artan azot alımıyla protein içeriği ve protein esnekliğinin artması nedeniyle azalır [**Shevkani vd., 2024**]. Bu çalışmada, artan azot uygulamasıyla dane sertliği değerleri azalmış ve bu, protein içeriğinin yükselmesi ve glutenin-gliadin kaynaklı esnekliğin artmasıyla uyumlu bulunmuştur. Mikrobiyal konsorsiyum üyelerinin uygulandığı tedavilerde dane sertliği tam doz azot tedavilerine kıyasla hafifçe azalmış, ancak TSR5B-129 izolatı; *B.amyloliquefaciens* için bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Bu durum, tedaviler arasında azot alımı ile protein içeriği arasında potansiyel pozitif bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Özellikle TSR5B-131 izolatı; *B.subtilis* uygulamasında protein içeriğinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu artış, düşük başak yoğunluğu, azalmış besin rekabeti ve TSR5B-131'in güçlü siderofor üretimiyle, demir alımını rekabet eden patojenlerden sınırlandırarak azot kullanımını artırması ile açıklanabilir. Mikrobiyal konsorsiyum uygulamalarında, azot gübresi %25 azaltıldığında başak sayısında anlamlı bir fark gözlenmezken, %50 azot azaltımında başak sayısında %34.2 azalma gözlenmiştir.

Buğday, gübreleme miktarı açısından en yüksek azot girdisi gerektiren tahıllar arasında yer almaktadır. Azotun miktarı, uygulama sıklığı ve yöntemi, buğdayın biyokütle ve dane verimini önemli ölçüde etkileyebilir [**Aryan vd., 2024**]. Önceki bir çalışmada [**Parunandi vd., 2023**], azot miktarının %25 azaltılmasının önemli bir fark yaratmadığı belirtilmiş ve mikrobiyal gübrelerle kullanılacak azot miktarının hassas şekilde ayarlanması gerektiği vurgulanmıştır.

Dane çapı ve 1000 dane ağırlığı karşılaştırıldığında, azot gübresi uygulanmayan negatif kontrol grubunun bu değerlerde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu

durumun, bu grubun daha yüksek karbon-azot (C/N) oranına bağı olarak glikoz ve nişasta sentezini desteklemesinden kaynaklandığı düşünölmektedir. Ancak bu grup, tüm uygulamalar arasında en düşük protein içeriğine sahip olmuştur. Bu bulgular, önceki araştırmalarla uyumludur [Wang vd., 2021]. Azot seviyeleri arttıkça, dane çapı ve 1000 dane ağırlığı azalırken protein içeriği kademeli olarak artmıştır .

Bu çalışmada, negatif kontrol ve azotlu gübre gruplarında hektolitre ağırlığında azalmalar gözlenmiştir; bu durumun, artan azot alımıyla birlikte C/N oranının değişmesinden kaynaklandığı ve bunun danelerdeki şeker ve nişasta içeriğini azaltarak hektolitre ağırlığını olumsuz etkilediği düşünölmektedir. İlginç şekilde, %25 azaltılmış azot uygulaması ile mikrobiyal konsorsiyum tedavisi, tam doz azot grubuna kıyasla geliştirilmiş hektolitre ağırlığı göstermiştir. Bu iyileşme, mikrobiyal konsorsiyumun azotu verimli kullanması ve böylece dane dolumunu, dane çaplarını ve dane homojenliğini artırması ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak, oluşturulan Mikrobiyal konsorsiyumun %75 AN ile Mikrobiyal Gübre kullanımının Bitki boyu (%8.36), Başak sayısı (%64.2), dane çapı (%10.8), 1000 dane ağırlığı (%5.70) ve Hektolitre ağırlığı (%33.1) 'nda anlamlı derecede artış sağladığı göröldü ($p<0.05$). Ayrıca, mikrobiyal gübrenin, tek suşlu uygulamalara göre daha etkili olduğı belirlenmiştir. Bu sonuçlar sürdürülebilir tarımda kimyasal gübre ihtiyacının azaltılabileceğini ve mikrobiyal konsorsiyumların etkili bir biyogübre alternatifi olabileceğini göstermektedir.

5.1. Gelecek Öngör leri

Çalışma kapsamında Bitki büyüme teşvik edici özellikler bakımından 6 izolat elde edilmiştir. *In vitro* koşullarda çapraz çizgi (cross-streak) yöntemi ile uyumlu izolatlar seçilerek antagonistik etkilerin başarılı bir şekilde azaltılmasının ardından, uyumsuz izolatlar elimine edilerek *in vivo* koşullarda sinerjik etkilerin teşvik edilmesi sağlanmıştır. Ancak, yalnızca bu yaklaşımın bitki-bakteri etkileşimlerine dair kapsamlı bir anlayış sağlamadığına dikkat edilmelidir. Daha derinlemesine bir bilgi edinmek için, bu etkileşimler hakkında daha kapsamlı bilgiler sağlayabilen çeşitli omik teknolojilerinin kullanılması gerekmektedir [Jain vd., 2024]. Bunlar arasında, metagenomik teknolojiler, farklı koşullar altında bitki-bakteri etkileşimlerini açıklamak ve temel mekanizmaları ortaya koymak için önemli bir araçtır [Jagadesh vd., 2024]. Bu teknolojiler ile antagonistik etkilerin azaltılmasına ve mikroorganizma konsorsiyumlarının uzun vadeli stabilite ve işlevselliğinin izlenmesine yardımcı olabilir. Ayrıca bu izolatların laboratuvar koşullarında ve sera koşullarında yararlı etkileri belirlenmiş olsa da tarla koşullarında da yapılacak çalışmalar ile izolatların etkinliğini belirleme açısından önemlidir. Oluşturulan konsorsiyumlar buğday bitkisinde büyüme, verim ve kalite açısından değerlendirildiği gibi başka bitkiler üzerinde etkinliklerinin belirlenmesi açısından çalışmaların olması gerekli olabilir.

Ayrıca bu çalışmada, mikrobiyal konsorsiyumların kimyasal gübre kullanımını azaltırken bitki büyümesini koruyan veya artıran sürdürülebilir araçlar olarak potansiyelini vurgulanmakta olup, etkileşim mekanizmalarının daha derinlemesine anlaşılması ve konsorsiyum bileşimi ile uygulama oranlarının maksimum agronomik fayda sağlamak amacıyla optimize edilmesi için daha ileri düzey araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Abdelwahed S., Trabelsi E., Saadouli I., Kouidhi S., Masmoudi A. S., Cherif A., Mosbah A., (2022), "A new pioneer colorimetric micro-plate method for the estimation of ammonia production by plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)", *Main Group Chemistry*, 21(1), 55-68.
- Abebe T. G., Tamtam M. R., Abebe A. A., Abtemariam K. A., Shigut T. G., Dejen Y. A., Haile E. G., (2022), "Growing use and impacts of chemical fertilizers and assessing alternative organic fertilizer sources in Ethiopia", *Applied and Environmental Soil Science*, 1, 4738416.
- Acet S., (2023), "Bitki büyümesini teşvik edici özelliğe sahip bakterilerin buğday rizosferinden izolasyonu, saflaştırılması, biyokimyasal ve moleküler biyolojik yöntemlerle tanımlanması", Yüksek Lisans Tezi, Gebze Teknik Üniversitesi.
- Adhikari L., Raupp J., Wu S., Wilson D., Evers B., Koo D. H., Poland, J., (2022), "Genetic characterization and curation of diploid A-genome wheat species", *Plant Physiology*, 188(4), 2101-2114.
- Afroz N., Zomo S. A. Zaman J., Reza M. O. H., Kayess M. O., (2024), "Optimization of Nitrogen Fertilizer Dose for the Growth and Development of BRRI Dhan47", *Asian Journal of Research in Crop Science*, 9(2), 128–133.
- Aguilar-Paredes A., Valdés G., Nuti M., (2020). "Ecosystem Functions of Microbial Consortia in Sustainable Agriculture", *Agronomy*, 10(12), 1902.
- Ajjah N., Fiodor A., Pandey A. K., Rana A., Pranaw, K., (2023), "Plant Growth-Promoting Bacteria (PGPB) with Biofilm-Forming Ability: A Multifaceted Agent for Sustainable Agriculture", *Diversity*, 15(1), 112.
- Al Jabri H., Saleem M. H., Rizwan M., Hussain I., Usman K., Alsafran M. (2022), "Zinc oxide nanoparticles and their biosynthesis: overview", *Life*, 12(4), 594.
- Alemu H., (2017), "Review paper on breeding durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. Durum) for quality traits", *Int. J. Adv. Res. Publ*, 1, 448-455.
- Alexander S. K., Strete D., (2001), "Microbiology: A Photographic Atlas for the Laboratory", 1st Edition, Benjamin Cummings.
- Alexander A., Singh V. K., Mishra A., Jha, B., (2019), Plant growth promoting rhizobacterium *Stenotrophomonas maltophilia* BJ01 augments endurance against N2 starvation by modulating physiology and biochemical activities of *Arachis hypogea*", *Plos one*, 14(9), e0222405.
- Aloo B. N., Tripathi V., Makumba B. A., Mbega, E. R., (2022), "Plant growth-promoting rhizobacterial biofertilizers for crop production: The past, present, and future", *Frontiers in Plant Science*, 13, 1002448.

Alzate Zuluaga M. Y., Fattorini R., Cesco S., Pii, Y., (2024), “Plant-microbe interactions in the rhizosphere for smarter and more sustainable crop fertilization: the case of PGPR-based biofertilizers”, *Frontiers in Microbiology*, 15, 1440978.

Anand A., Falquet L., Abou-Mansour E., L'Haridon F., Keel C., Weiskopf L., (2023), “Biological hydrogen cyanide emission globally impacts the physiology of both HCN-emitting and HCN-perceiving *Pseudomonas*”, *Mbio*, 14(5), e00857-23.

Arora N. K., Verma M., (2017), “Modified microplate method for rapid and efficient estimation of siderophore produced by bacteria”, *3 Biotech*, 7(6), 381.

Aryan S., Gulab G., Hashemi T., Habibi S., Kakar K., Habibi N., Zerafi, A., (2024), “Pre-spike emergence nitrogen fertilizer application as a strategy to improve floret fertility and production efficiency in wheat”, *Field Crops Research*, 319, 109623.

Asghar I., Ahmed M., Farooq M. A., Ishtiaq M., Arshad M., Akram M., Naeem A., (2023), “Characterizing indigenous plant growth promoting bacteria and their synergistic effects with organic and chemical fertilizers on wheat (*Triticum aestivum*)”, *Frontiers in Plant Science*, 14, 1232271.

Awasthi A., Bharti N., Nair P., Singh R., Shukla A. K., Gupta M. M., Kalra A., (2011), “Synergistic effect of *Glomus mosseae* and nitrogen fixing *Bacillus subtilis* strain Daz26 on artemisinin content in *Artemisia annua* L.”, *Applied Soil Ecology*, 49, 125-130.

Balouiri M., Sadiki M., Ibnsouda S. K., (2016), “Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review”, *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.

Behera B., Das T. K., Raj R., Ghosh S., Raza M. B., Sen S., (2021), “Microbial consortia for sustaining productivity of non-legume crops: prospects and challenges”, *Agricultural Research*, 10, 1-14.

Ben Mariem S., González-Torralba J., Collar C., Aranjuelo I., Morales F., (2020), “Durum wheat grain yield and quality under low and high nitrogen conditions: insights into natural variation in low-and high-yielding genotypes”, *Plants*, 9(12), 1636.

Ben Zineb A., Trabelsi D., Ayachi I., Barhoumi F., Aroca R., Mhamdi R., (2020), “Inoculation with elite strains of phosphate-solubilizing bacteria enhances the effectiveness of fertilization with rock phosphates”, *Geomicrobiology journal*, 37(1), 22-30.

Bergey D. H., (1994), “BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY”.

Bhattacharyya C., Banerjee S., Acharya U., Mitra A., Mallick I., Haldar A., Haldar S., Ghosh A., Ghosh, A., (2020), “Evaluation of plant growth promotion properties and induction of antioxidative defense mechanism by tea rhizobacteria of Darjeeling, India”, *Scientific reports*, 10(1), 15536.

Blanco-Vargas A., Rodríguez-Gacha L. M., Sánchez-Castro N., Garzón-Jaramillo, R., Pedroza-Camacho L. D., Poutou-Piñales R. A., Pedroza-Rodríguez, A. M., (2020), "Phosphate-solubilizing *Pseudomonas* sp., and *Serratia* sp., co-culture for *Allium cepa* L. growth promotion", *Heliyon*, 6(10).

Bojović B., Marković A., (2009), "Correlation between nitrogen and chlorophyll content in wheat (*Triticum aestivum* L.)", *Kragujevac Journal of Science*, 31(5827), 69-74.

Bradáčová K., Florea A. S., Bar-Tal A., Minz D., Yermiyahu U., Shawahna R., Pošta G., (2019), "Microbial consortia versus single-strain inoculants: an advantage in PGPM-assisted tomato production?", *Agronomy*, 9(2), 105.

Breidt G., Korsten L., Gokul J. K., (2025), "Enhancing multi-season wheat yield through plant growth-promoting rhizobacteria using consortium and individual isolate applications", *Folia Microbiologica*, 1-10.

Bryla D. R., Shireman, A. D., Machado R. M., (2008), "Effects of method and level of nitrogen fertilizer application on soil pH, electrical conductivity, and availability of ammonium and nitrate in blueberry", In VI International Symposium on Mineral Nutrition of Fruit Crops 868 (pp. 95-102).

Cappuccino J. G., Sherman, N., (2005), "Microbiology: a laboratory manual (p. 507)", San Francisco: Pearson/Benjamin Cummings.

Castric P. A., (1975), "Hydrogen cyanide, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*" *Canadian Journal of Microbiology*, 21(5), 613-618.

Castro-Camba R., Sánchez C., Vidal N., Vielba J. M., (2022), Interactions of gibberellins with phytohormones and their role in stress responses. *Horticulturae*, 8(3), 241.

Cha J. K., O'Connor K., Alahmad S., Lee J. H., Dinglasan E., Park H., Dixon, L. E., (2022), "Speed vernalization to accelerate generation advance in winter cereal crops", *Molecular Plant*, 15(8), 1300-1309.

Chandra D., Sharma A. K., (2021), "Field evaluation of consortium of bacterial inoculants producing ACC deaminase on growth, nutrients and yield components of rice and wheat", *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 24(3), 293-305.

Chauhan H., Bagyaraj D. J., Selvakumar G., Sundaram S. P., (2015), "Novel plant growth promoting rhizobacteria Prospects and potential", *Applied Soil Ecology*, 95, 38-53.

Chavan D., Khatoon H., Anokhe A., Kalia V., (2022), "Oxidase test: A biochemical method in bacterial identification", *AgriCos e-Newsletter*, 3, 31-33.

Chen C., Zhou S., Afshar R. K., Franck W., Zhou Y., (2023), “Durum wheat yield and protein influenced by nitrogen management and cropping rotation” *Journal of Plant Nutrition*, 46(5), 675-684.

Chen J., Sharifi R., Khan M. S. S., Islam F., Bhat J. A., Kui L., Majeed A., (2022), “Wheat microbiome: structure, dynamics, and role in improving performance under stress environments”, *Frontiers in microbiology*, 12, 821546.

Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF et al., (1985), “Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices”, *Journal of Clinical Microbiology* 22 (6): 996-1006.

Crichton R., (2016), “Iron metabolism: from molecular mechanisms to clinical consequences” John Wiley & Sons.

Dadaşoğlu F., Dadaşoğlu E., Orhan, F., (2023), “The effect of plant growth promoting bacteria both in vitro and hydroponic culture of barley (*Hordeum vulgare*) growth”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 47(5), 669-675.

Dal Cortivo C., Ferrari M., Visioli G., Lauro M., Fornasier F., Barion G., Vamerali, T., (2020), “Effects of seed-applied biofertilizers on rhizosphere biodiversity and growth of common wheat (*Triticum aestivum* L.) in the field”, *Frontiers in Plant Science*, 11, 72.

Damo J. L. C., Pedro M., Sison M. L., (2024), “Phosphate Solubilization and Plant Growth Promotion by *Enterobacter* sp. Isolate”, *Applied Microbiology*, 4(3), 1177-1192.

de Andrade L. A., Santos C. H. B., Frezarin E. T., Sales L. R., Rigobelo E.C., (2023), “Plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agricultural production”, *Microorganisms*, 11(4), 1088.

Delfim J., Schoebitz M., Paulino L., Hirzel J., Zagal E., (2018), “Phosphorus availability in wheat, in volcanic soils inoculated with phosphate-solubilizing *Bacillus thuringiensis*”, *Sustainability*, 10(1), 144.

Denton-Thompson S. M., Sayer E. J., (2022), “Micronutrients in food production: what can we learn from natural ecosystems?”, *Soil Systems*, 6(1), 8.

Devi R., Alsaffar M. F., AL-Taey D. K., Kumar S., Negi R., Sharma B., Ahluwalia, A. S., (2024), “Synergistic effect of minerals solubilizing and siderophores producing bacteria as different microbial consortium for growth and nutrient uptake of oats (*Avena sativa* L.)”, *Vegetos*, 37(5), 1863-1875.

Devi R., Kaur T., Negi, R., Kour D., Kumar S., Yadav A., Yadav A. N., (2024), “Bioformulation of mineral solubilizing microbes as novel microbial consortium for the growth promotion of wheat (*Triticum aestivum*) under the controlled and natural conditions”, *Heliyon*, 10(12).

Deyalage S. T., House J. D., Thandapilly S. J., Malalgoda, M., (2024), “Nutritional characteristics and physicochemical properties of ancient wheat species for food applications”, *Food Bioscience*, 105397.

Dimitrios A., (2024), “Durum Wheat: Uses, Quality Characteristics, and Applied Tests”, *IntechOpen*.

dos Santos F. L., Vian A. L., da Silva F. B., de Sá E. L. S., Bredemeier C., Trentin, C., Drum, M. A., (2020), “Reduction in nitrogen fertilization in *Triticum* sp. inoculated and co-inoculated”, *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 15(2), 1-5.

Drobitko A., Kachanova T., (2023), “Agroecological substantiation of technologies for growing grain crops in the conditions of the Southern Steppe of Ukraine”.

Ebrahimi M., Safari Sinegani A. A., Sarikhani M. R., Aliasgharzad N., (2023), “Inoculation effects of isolated plant growth promoting bacteria on wheat yield and grain N content”, *Journal of Plant Nutrition*, 46(7), 1407-1420.

Elahi I., Saeed U., Wadood A., Abbas A., Nawaz H., Jabbar S., (2022), “Effect of Climate Change on Wheat Productivity”, *IntechOpen*.

Fasim F., Ahmed N., Parsons R., Gadd G. M., (2002), Solubilization of zinc salts by a bacterium isolated from the air environment of a tannery. *FEMS microbiology letters*, 213(1), 1-6.

Fathi A., (2022), “Role of nitrogen (N) in plant growth, photosynthesis pigments, and N use efficiency: A. Agrisost, 28, 1-8.

Feldman M., Levy A. A., (2023), “Evolution of wheat under cultivation. *In Wheat Evolution and Domestication* (pp.605-663)”, Cham: Springer International Publishing.

Feroun M., Srhiouar N., Tirry N., Belahcen D., Siang T. C., Louahlia S., El Ghachtouli N., (2023), “Optimized drought tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102691.

Feyisa D. S., Jiao X., Mojo, D., (2024), “Wheat yield response to chemical nitrogen fertilizer application in Africa and China: a meta-analysis”, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 24(1), 102-114.

Figiel, S., Rusek P., Ryszko U., Brodowska, M.S., (2025), “Microbially Enhanced Biofertilizers: Technologies, Mechanisms of Action, and Agricultural Applications”, *Agronomy*, 15(5), 1191.

Fowler, C. W., & Rasmusson D.C., (1969), “Leaf area relationships and inheritance in barley 1”, *Crop Science*, 9(6), 729-731.

Galindo F. S., Pagliari P. H., Fernandes G. C., Rodrigues W. L., Boleta E. H. M., Jalal, A., Teixeira Filho, M. C. M., (2022), "Improving sustainable field-grown wheat production with *Azospirillum brasilense* under tropical conditions: a potential tool for improving nitrogen management", *Frontiers in Environmental Science*, 10, 821628.

Galindo F. S., Teixeira Filho M. C. M., Buzetti S., Santini J. M. K., Alves C. J., Ludkiewicz M. G. Z., (2017), "Wheat yield in the Cerrado as affected by nitrogen fertilization and inoculation with *Azospirillum brasilense*", *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 52(9), 794-805.

Gallart M., Paungfoo-Lonhienne C., Gonzalez A., Trueman S. J., (2021), "Nitrogen source influences the effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on *Macadamia integrifolia*", *Agronomy*, 11(6), 1064.

Ganesh J., Hewitt K., Devkota A. R., Wilson T., Kaundal A., (2024), "IAA-producing plant growth promoting rhizobacteria from *Ceanothus velutinus* enhance cutting propagation efficiency and Arabidopsis biomass", *Frontiers in Plant Science*, 15, 1374877.

Gao J., Zhuang, S., Zhang W., (2024), "Advances in plant auxin biology: synthesis, metabolism, signaling, interaction with other hormones, and roles under abiotic stress", *Plants*, 13(17), 2523.

Ghazy N., El-Nahrawy S., (2021), "Siderophore production by *Bacillus subtilis* MF497446 and *Pseudomonas koreensis* MG209738 and their efficacy in controlling *Cephalosporium maydis* in maize plant", *Archives of microbiology*, 203(3), 1195-1209.

Giri K., Mishra G., Suyal D. C., Kumar N., Doley B., Das N., Bora, N., (2023), "Performance evaluation of native plant growth-promoting rhizobacteria for paddy yield enhancement in the jhum fields of Mokokchung, Nagaland, North East India", *Heliyon*, 9(3).

Gismy S., Uddin M. R., Rahman M. S., Talukder F. U., Imran S., (2020), "Effect of nitrogen (N) fertilizer to yield and yield contributing characters of BARI Gom30", *Tropical Agroecosystems (TAEC)*, 1(1), 19-25.

Gopalakrishnan S., Srinivas V., & Samineni S., (2017), "Nitrogen fixation, plant growth and yield enhancements by diazotrophic growth-promoting bacteria in two cultivars of chickpea (*Cicer arietinum* L.)", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 11, 116-123.

Gordon S. A., Weber R.P., (1951), "Colorimetric estimation of indoleacetic acid", *Plant physiology*, 26(1), 192.

Gorecki H., (2010), "Ammonia and fertilizers", *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*; United Kingdom Chemical Engineering and Chemical Process Technology, 5.

Grafenauer S., Miglioretto C., Solah V., Curtain F., (2020), “Review of the Sensory and Physico-Chemical Properties of Red and White Wheat: Which Makes the Best Whole Grain?”, *Foods*, 9(2), 136.

Grosse-Heilmann M., Cristiano E., Deidda R., Viola F., (2024), “Durum wheat productivity today and tomorrow: A review of influencing factors and climate change effects”, *Resources, Environment and Sustainability*, 100170.

Guo Y., Wang J., (2021), “Spatiotemporal changes of chemical fertilizer application and its environmental risks in China from 2000 to 2019”, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(22), 11911.

Gupta D., Sinha S. N., (2020), “Production of hydrogen cyanide (HCN) by purple non-sulfur bacterium isolated from the rice field of West Bengal”, *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 15, 16-26.

Güler M., Ögütçü H., (2024), “Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from rhizosphere of *Helianthus annuus* L.”, *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, 8(2), 412-429.

Habibi S, Yokoyama T, Haidari MD, Torii A, Yasuda M et al., (2023), “Analyzing single and combined cultures of plant growth-promoting rhizobacteria isolates from Afghanistan as a potential biofertilizer for rice growth and development”, *Agriculture* 13 (12): 2252.

Hao T., Chen R., Jia J., Zhao C., Du Y., Li W., Duan H., (2023), “Enhancing wheat gluten content and processing quality: An analysis of drip irrigation nitrogen frequency” *Plants*, 12(23), 3974.

Hashem A., Tabassum B., Abd_Allah E. F., (2019), “*Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress”, *Saudi journal of biological sciences*, 26(6), 1291-1297.

Heo A. Y., Koo Y. M., Choi H. W., (2022), “Biological control activity of plant growth promoting rhizobacteria *Burkholderia contaminans* AY001 against tomato *Fusarium* wilt and bacterial speck diseases”, *Biology*, 11(4), 619.

Hosseinzadeh F., Sate A., Ramezanpour M. R., (2011), “Effects of Mycorrhiza and Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth, Nutrients Uptake and Physiological Characteristics in (*Calendula Officinalis* L.) Middle East”, *J. Sci. Res*, 8(5), 947-953.

Huang W. T., Xie Y. Z., Chen X. F., Zhan J., Chen H.H., Ye X., .Chen, L.S., (2021), Growth, mineral nutrients, photosynthesis and related physiological parameters of Citrus in response to nitrogen deficiency”, *Agronomy*, 11(9), 1859.

Hussey AM, Zayaitz Anne, (2013), “Endospore stain protocol”, *American Society for Microbiology* (September 2007): 1-11.

Ibarra-Villarreal A.L., Villarreal-Delgado M.F., Parra-Cota F.I., Yopez E.A., Guzmán C., Gutierrez-Coronado M.A., Santos-Villalobos S.D.L., (2023), “Effect of a native bacterial consortium on growth, yield, and grain quality of durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. durum) under different nitrogen rates in the Yaqui Valley, Mexico”, *Plant Signaling & Behavior*, 18(1), 2219837.

Jagadesh M., Dash M., Kumari A., Singh S. K., Verma K. K., Kumar P., Sharma S. K., (2024), “Revealing the hidden world of soil microbes: metagenomic insights into plant, bacteria, and fungi interactions for sustainable agriculture and ecosystem restoration”, *Microbiological Research*, 285, 127764.

Jahan N., Mahmud U., Khan, M. Z., (2025), “Sustainable plant-soil phosphorus management in agricultural systems: challenges, environmental impacts and innovative solutions”, *Discover Soil*, 2(1), 1-8.

Jain A., Sarsaiya S., Singh R., Gong Q., Wu Q., Shi J., (2024), “Omics approaches in understanding the benefits of plant-microbe interactions”, *Frontiers in Microbiology*, 15, 1391059.

Jain D., Meena R. H., Choudhary J., Sharma S. K., Chauhan S., Bhojiya A. A., Mohanty S. R., (2021), “Effect of microbial consortia on growth and yield of wheat under typic haplustepts”, *Plant Physiology Reports*, 26(3), 570-580.

Jalal A., Oliveira C. E. D. S., Bastos A. D. C., Fernandes G. C., De Lima B.H., Furlani Junior E., Teixeira Filho M. C. M., (2023), “Nanozinc and plant growth-promoting bacteria improve biochemical and metabolic attributes of maize in tropical Cerrado”, *Frontiers in Plant Science*, 13, 1046642.

Jalal-Ud-Din S., Elahi N. N., Mubeen F., (2024), “Significance of zinc-solubilizing plant growth-promoting rhizobacterial strains in nutrient acquisition, enhancement of growth, yield, and oil content of canola (*Brassica napus* L.)”, *Frontiers in Microbiology*, 15, 1446064.

Jamaati-e-Somarin S., Zabihi-e-Mahmoodabad R., Yari A., Khayatnezhad M., Gholamin R., (2010), “Effect of nitrogen fertiliser levels and plant density on some physiological traits of durum wheat”, *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 9(2), 121-127.

Ju Z., Liu K., Zhao G., Ma X., Jia Z., (2022), “Nitrogen fertilizer and sowing density affect flag leaf photosynthetic characteristics, grain yield, and yield components of oat in a semiarid region of northwest China”, *Agronomy*, 12(9), 2108.

Kaur T., Devi R., Kumar S., Sheikh I., Kour D.,Yadav A. N., (2022), “Microbial consortium with nitrogen fixing and mineral solubilizing attributes for growth of barley (*Hordeum vulgare* L.)”, *Heliyon*, 8(4).

Keikha M., Darzi-Naftchali A., Motevali A.,Valipour, M., (2023), “Effect of nitrogen management on the environmental and economic sustainability of wheat production in different climates”, *Agricultural Water Management*, 276, 108060.

Khalid A., Hameed A., Tahir M. F., (2023), “Wheat quality: A review on chemical composition, nutritional attributes, grain anatomy, types, classification, and function of seed storage proteins in bread making quality”, *Frontiers in Nutrition*, 10, 1053196.

Khan F., Siddique A. B., Shabala S., Zhou M., Zhao, C., (2023), “Phosphorus plays key roles in regulating plants’ physiological responses to abiotic stresses”, *Plants*, 12(15), 2861.

Khan M. Y., Nadeem S. M., Sohaib M., Waqas M. R., Alotaibi F., Ali, L., Al-Barakah F. N., (2022), “Potential of plant growth promoting bacterial consortium for improving the growth and yield of wheat under saline conditions”, *Frontiers in microbiology*, 13, 958522.

Khatoun H., Anokhe A., Kalia V., (2022), “Catalase test: A biochemical protocol for bacterial identification”, *AgriCos e-Newsletter*, 3(1), 53-55.

Khoso M. A., Wagan S., Alam I., Hussain A., Ali Q., Saha S., Liu F., (2024). “Impact of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on plant nutrition and root characteristics: Current perspective”, *Plant Stress*, 11, 100341.

Koyuncu N., (2012), “Bazı Makarnalık buğday (*T. durum* Desf.) çeşitlerinin in vitro koşullarda yüksek tuz dozlarına tepkileri”, *Journal of Field Crops Central Research Institute (Turkey)*, 21(2).

Krasilnikov P., Taboada M. A., Amanullah., (2022), “Fertilizer use, soil health and agricultural sustainability”, *Agriculture*, 12(4), 462.

Kubar M. S., Wang C., Noor R. S., Feng M., Yang W., Kubar K. A., Mosa, W. F., (2022), “Nitrogen fertilizer application rates and ratios promote the biochemical and physiological attributes of winter wheat”, *Frontiers in Plant Science*, 13, 1011515.

Kumar A., Maurya B. R., Raghuwanshi R., (2021), “The microbial consortium of indigenous rhizobacteria improving plant health, yield and nutrient content in wheat (*Triticum aestivum*)”, *Journal of Plant Nutrition*, 44(13), 1942-1956.

Kumar M., Mishra S., Dixit V., Kumar M., Agarwal L., Chauhan P. S., Nautiyal, C. S., (2016), “Synergistic effect of *Pseudomonas putida* and *Bacillus amyloliquefaciens* ameliorates drought stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.)”, *Plant signaling & behavior*, 11(1), e1071004.

Kumari S., (2011), “Yield response of unicult wheat (*Triticum aestivum* L.) to early and late application of nitrogen: flag leaf development and senescence”, *Journal of Agricultural Science*, 3(1), 170.

Lade H., Park J. H., Chung S. H., Kim I. H., Kim J. M., Joo H. S., Kim, J. S., (2019), “Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* clinical isolates is differentially affected by glucose and sodium chloride supplemented culture media”, *Journal of clinical medicine*, 8(11), 1853.

Lal A., Cheeptham, N., (2012), “Starch agar protocol”, American Society for Microbiology, 1, 1-9.

Lamichhane S., Murata C., Griffey C. A., Thomason W. E., Fukao T., (2021), “Physiological and molecular traits associated with nitrogen uptake under limited nitrogen in soft red winter wheat”, *Plants*, 10(1), 165.

Landge S. K., Patel K. K. J., Thakare U. E., (2024), “Optimization of nitrogen and phosphorus fertilization for enhancing growth, yield, and efficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.) under Punjab agro-climatic conditions”, *International Journal of Research in Agronomy*, 7(11): 480-483.

Létoffé S., Wu Y., Darch S. E., Beloin C., Whiteley M., Touqui L., Ghigo J.M., (2022), “*Pseudomonas aeruginosa* production of hydrogen cyanide leads to airborne control of *Staphylococcus aureus* growth in biofilm and in vivo lung environments”, *MBio*, 13(5), e02154-22.

Li S., Li Z., Bi X., Feng B., Wang Z., Wang F., Liu K., (2022), “Nitrogen fertilizer management on wheat yield and nitrogen utilization”, *Journal of Plant Nutrition*, 45(13), 1953-1960.

Lihan S., Benet F., Husaini A.A.S.A., Apun K., Roslan H. A., Hassan H. (2021), “Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from sago palm (*Metroxylon sago*, Rottb.)”, *Tropical Life Sciences Research*, 32(3), 39.

Liu F., Cao W., Zhang Q., Li Y., Zhou H., Wan, Y., (2025), “Winter Wheat Vernalization Alleles and Freezing Tolerance at the Seedling and Jointing Stages”, *Plants*, 14(9), 1350.

Liu X., Mei S., Salles J. F., (2023), “Do inoculated microbial consortia perform better than single strains in living soil? A meta-analysis”, *BioRxiv*, 2023-03.

Liu Y., Liao Y., Liu, W., (2021), “High nitrogen application rate and planting density reduce wheat grain yield by reducing filling rate of inferior grain in middle spikelets”, *The Crop Journal*, 9(2), 412-426.

Louden B. C., Haarmann D., Lynne A. M., (2011), “Use of blue agar CAS assay for siderophore detection”, *Journal of microbiology & biology education*, 12(1), 51-53.

Luo C, Guo Z, Xiao J, et al., (2021), “Effects of Applied Ratio of Nitrogen on the Light Environment in the Canopy and Growth, Development and Yield of Wheat When Intercropped”, *Front Plant Sci* 12:1–12.

MacWilliams, M. P., (2009), “Citrate test protocol”, American Society for Microbiology, 1-7.

Mahboob W., Yang G., Irfan, M., (2023), “Crop nitrogen (N) utilization mechanism and strategies to improve N use efficiency”, *Acta Physiologiae Plantarum*, 45(4), 52.

Maheshwari R., Bhutani N., Suneja P., (2019), “Screening and characterization of siderophore-producing endophytic bacteria from *Cicer arietinum* and *Pisum sativum* plants.

Mamun A. A., Neumann G., Moradtalab N., Ahmed A., Dupuis B., Darbon G., Weinmann M., (2024), “Microbial consortia versus single-strain inoculants as drought stress protectants in potato affected by the form of N supply”, *Horticulturae*, 10(1), 102.

Martínez-Viveros O., Jorquera M. A., Crowley D. E., Gajardo G. M. L. M., Mora, M. L. (2010), “Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria”, *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 293-319.

Mažylytė R., Kailiuvienė J., Mažonienė E., Orola L., Kaziūnienė J., Mažylytė K., Gegeckas A., (2024), “The Co-Inoculation Effect on *Triticum aestivum* Growth with Synthetic Microbial Communities (SynComs) and Their Potential in Agrobiotechnology”, *Plants*, 13(12), 1716.

Michl K., Berg, G., Cernava T., (2023), “The microbiome of cereal plants: the current state of knowledge and the potential for future applications”, *Environmental microbiome*, 18(1), 28.

Miller R. L., Higgins V. J., (1970), “Association of cyanide with infection of birdsfoot trefoil by *Stemphylium loti*”, *Phytopathology*, 60(1), 104-110.

Modi K., Jha, S., Patel P., Suthar H., (2022), “Isolation and characterization of *Bacillus* consortia for plant growth promotion in rice (*Oryza sativa* L.)”, *Plantae Scientia*, 5(1), 17-28.

Muhae-Ud-Din G., Ali M. A., Naveed M., Naveed K., Abbas A., Anwar J., Tanveer M. H., (2018), “Consortium application of endophytic bacteria and fungi improves grain yield and physiological attributes in advanced lines of bread wheat”, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 6(2), 136-144.

Mutlu A., (2022), “The influence of different bacteria consortium and irrigation levels on yield and physiological attributes of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) grown under organic farming conditions”, *Journal of King Saud University-Science*, 34(8), 102366.

Naz M., Dai Z., Hussain S., Tariq M., Danish S., Khan I. U., Du, D., (2022), “The soil pH and heavy metals revealed their impact on soil microbial community”, *Journal of Environmental Management*, 321, 115770.

Negi R., Kaur T., Devi R., Kour D., Yadav A. N., (2022), “Assessment of nitrogen-fixing endophytic and mineral solubilizing rhizospheric bacteria as multifunctional

microbial consortium for growth promotion of wheat and wild wheat relative *Aegilops kotschy*", Heliyon, 8(12).

Nitayaros J., Thanyasiriwat T., Sangdee A., Rattanapolsan L., Boonruangrod R., Kawicha P., (2023), "Evaluation of banana cultivars and the pathogenesis-related class 3 and 10 proteins in defense against *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis*, the causal agent of banana blood disease", Journal of Plant Protection Research, 375-386.

Nunes P. S., Lacerda-Junior G. V., Mascarin G. M., Guimarães R. A., Medeiros F. H., Arthurs, S., Bettiol, W., (2024), "Microbial consortia of biological products: do they have a future?", Biological Control, 188, 105439.

Okuyama L. A., Caramori P. H., Kohli M. M., (2020), "New microchondrometer to measure hectoliter weight in small samples of wheat", African Journal of Agricultural Research, 15(4), 524-530.

Olanrewaju O. S., Babalola O.O., (2019), "Bacterial consortium for improved maize (*Zea mays* L.) production", Microorganisms, 7(11), 519.

Olanrewaju O. S., Glick B. R., Babalola O. O., (2017), "Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria ", World Journal of Microbiology and Biotechnology, 33, 1-16.

Onyeaka H., Nwauzoma U. M., Akinsemolu A. A., Tamasiga P., Duan K., Al-Sharify Z. T., Siyanbola, K. F., (2024), "The ripple effects of climate change on agricultural sustainability and food security in Africa. Food and Energy Security, 13(5), e567.

Pande A., Pandey P., Mehra S., Singh M., Kaushik S., (2017), "Phenotypic and genotypic characterization of phosphate solubilizing bacteria and their efficiency on the growth of maize. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(2), 379-391.

Pandit A., Adholeya A., Cahill D., Brau L., Kochar M., (2020), "Microbial biofilms in nature: unlocking their potential for agricultural applications", Journal of applied microbiology, 129(2), 199–211.

Park M., Kim C., Yang J., Lee H., Shin W., Kim S., Sa, T., (2005), "Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea ", Microbiological Research, 160(2), 127-133.

Parunandi S. S., Murumkar D. R., Navale A. M., Shelke S. R., (2023), "International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences", Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 12(11), 138-167.

Payne S.M., (1994), "[25] Detection, isolation, and characterization of siderophores", Methods in enzymology, 235, 329-344.

Penuelas J., Coello, F., Sardans, J., (2023), “A better use of fertilizers is needed for global food security and environmental sustainability”, *Agriculture & Food Security*, 12(1), 1-9.

Pingale S. S., Virkar P.S., (2013), “Study of influence of phosphate dissolving micro-organisms on yield and phosphate uptake by crops”, *Eur. J. Exp. Biol*, 3, 191-193.

Pourmohammadi K., Abedi E., Hashemi S.M.B., (2023), “Gliadin and glutenin genomes and their effects on the technological aspect of wheat-based products”, *Current Research in Food Science*, 7, 100622.

Qingwei Z., Lushi T., Yu Z., Yu S., Wanting W., Jiangchuan W., Bilal M., (2023), Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from rhizosphere of poplar on road verge and their antagonistic potential against various phytopathogens”, *BMC microbiology*, 23(1), 221.

Rafique M., Naveed M., Mumtaz M. Z., Niaz A., Alamri S., Siddiqui M.H., Mustafa, A., (2024), “Unlocking the potential of biofilm-forming plant growth-promoting rhizobacteria for growth and yield enhancement in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Scientific Reports*, 14(1), 15546.

Reetha A.K., Pavani S.L., Mohan S., (2014), “Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.)”, *Goid. Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 3(5), 172-178.

Reiner K., (2012), “Carbohydrate fermentation protocol”, *energy*, 11, 12.

Rojas-Padilla J., De-Bashan L. E., Parra-Cota F. I., Rocha-Estrada J., de Los Santos-Villalobos S., (2022), “Microencapsulation of *Bacillus* strains for improving wheat (*Triticum turgidum* Subsp. durum) growth and development”, *Plants*, 11(21), 2920.

Romero-Perdomo F., Ocampo-Gallego J., Camelo-Rusique M., Bonilla R., (2019), “Plant growth promoting rhizobacteria and their potential as bioinoculants on *Pennisetum clandestinum* (Poaceae)”, *Revista de Biología Tropical*, 67(4), 825-832.

Rosas S. B., Andrés J. A., Rovera M., Correa N. S., (2006), “Phosphate-solubilizing *Pseudomonas putida* can influence the rhizobia–legume symbiosis”, *Soil Biology and Biochemistry*, 38(12), 3502-3505.

Sanchez-Bragado R., Serret M.D., Araus J.L., (2017), “The nitrogen contribution of different plant parts to wheat grains: exploring genotype, water, and nitrogen effects”, *Frontiers in Plant Science*, 7, 1986.

Santos-Villalobos S.D.L., Orozco-Mosqueda M.D.C., Glick B.R., (2021), “Plant growth stimulation by microbial consortia”, *Agronomy*, 11(2), 219.

Schoen A., Wallace S., Holbert M. F., Brown-Guidera G., Harrison S., Murphy P., Tiwari V., (2023), “Reducing the generation time in winter wheat cultivars using speed breeding” *Crop Science*, 63(4), 2079-2090.

Şeker M. G., Şah I., Kırdök E., Ekinci H., Çiftçi Y.Ö., Akkaya Ö., (2017), “A hidden plant growth promoting bacterium isolated from in vitro cultures of fraser photinia” (Photinia× fraseri).

Sethi G., Behera K. K., Sayyed R., Adarsh V., Sipra B. S., Singh L., Behera M., (2025), “Enhancing soil health and crop productivity: the role of zinc-solubilizing bacteria in sustainable agriculture”, Plant Growth Regulation, 1-17.

Shen M. C., Zhang Y. Z., Bo G. D., Yang B., Wang P., Ding Z.Y., Yuan X. L., (2022), “Microbial responses to the reduction of chemical fertilizers in the rhizosphere soil of flue-cured tobacco”, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 9, 812316.

Sherathia D., Jadeja V., (2023), “Synergetic effect of indigenous PGPR consortium on growth and yield of cultivated wheat (*Triticum aestivum*) in the Saurashtra region of India: Agricultural Microbiology”, Journal of BioScience and Biotechnology, 12(1), 75-83.

Shevkani K., Katyal M., Singh N., (2024), “A comparative review of protein and starch characteristics and end-use quality of soft and hard wheat ”, Food Chemistry Advances, 4, 100613.

Shields P., Cathcart L., (2011) “Motility test medium protocol”, American society for microbiology, 214, 215.

Shiferaw B., Smale M., Braun H. J., Duveiller E., Reynolds M., Muricho G., (2013), “Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security”, Food security, 5, 291-317.

Shim J., Kim J. W., Shea P.J., Oh B.T., (2015), “IAA production by *Bacillus* sp. JH 2-2 promotes Indian mustard growth in the presence of hexavalent chromium”, Journal of basic microbiology, 55(5), 652-658.

Sirohi G., Upadhyay A., Srivastava P. S., Srivastava S., (2015), “PGPR mediated Zinc biofertilization of soil and its impact on growth and productivity of wheat”, Journal of soil science and plant nutrition, 15(1), 202-216.

Tabacchioni S., Passato S., Ambrosino P., Huang L., Caldara M., Cantale C., Hett J., Del Fiore A., Fiore A., Schlüter A., Sczyrba A., Maestri E., Marmioli N., Neuhoof D., Nesme J., Sørensen S. J., Aprea G., Nobili C., Presenti O., Bevivino A., (2021), “Identification of Beneficial Microbial Consortia and Bioactive Compounds with Potential as Plant Biostimulants for a Sustainable Agriculture”, Microorganisms, 9(2), 426.

Tefera H., (2022), “Genetic variability, divergence, and path coefficient analysis of yield and yield related traits of Durum wheat (*Triticum turgidum* l. var. Durum) genotypes at Jamma district, south wollo zone, amhara region, Ethiopia”, Journal of Plant Science and Phytopathology, 6(2), 075-083.

Thamvithayakorn P., Phosri C., Robinson-Boyer L., Limnonthakul P., Doonan J. H., Suwannasai N., (2024), “The Synergistic Impact of a Novel Plant Growth-Promoting Rhizobacterial Consortium and *Ascophyllum nodosum* Seaweed Extract on Rhizosphere Microbiome Dynamics and Growth Enhancement in *Oryza sativa* L. RD79”, *Agronomy*, *14*(11), 2698.

Thomas L., Singh I., (2019), “Microbial biofertilizers: types and applications”, *Biofertilizers for sustainable agriculture and environment*, 1-19.

Timofeeva A. M., Galyamova M. R., Sedykh S.E., (2024), “How do plant growth-promoting bacteria use plant hormones to regulate stress reactions?”, *Plants*, *13*(17), 2371.

Tripathi N., Sapra A.M.I.T., (2024), “Gram Staining.[Updated 2023 Aug 14]. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing”.

Tsegaye Z., Alemu T., Desta F. A., Assefa F., (2022), “Plant growth-promoting rhizobacterial inoculation to improve growth, yield, and grain nutrient uptake of teff varieties”, *Frontiers in Microbiology*, *13*, 896770.

Tshering K., Rengel Z., Storer P., Solaiman Z. M., (2022), “Microbial consortium inoculum with rock minerals increased wheat grain yield, nitrogen-use efficiency, and protein yield due to larger root growth and architecture”, *Agronomy*, *12*(10), 2481.

Uyehara I. K., Bechinger T., Jordan A., van Kleunen M., (2024), “Neighbour-detection causes shifts in allocation across multiple organs to prepare plants for light competition”, *Functional Ecology*, *38*(8), 1848-1858.

Vishwakarma K., Kumar N., Shandilya C., Mohapatra S., Bhayana S., Varma, A., (2020), “Revisiting plant–microbe interactions and microbial consortia application for enhancing sustainable agriculture: a review”, *Frontiers in Microbiology*, *11*, 560406.

Wang P., (2021), “Friend or foe: how nitrate antagonizes ammonium toxicity”, *Plant physiology*, *186*(1), 210–211.

Wang D. C., Jiang C. H., Zhang L. N., Chen L., Zhang X. Y., Guo J. H., (2019), “Biofilms positively contribute to *Bacillus amyloliquefaciens* 54-induced drought tolerance in tomato plants”, *International journal of molecular sciences*, *20*(24), 6271.

Wang J., Li, R., Zhang H., Wei G., Li, Z., (2020), “Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application”, *BMC microbiology*, *20*, 1-12.

Wang M., Lu J., Liu R., Li Y., Ao D., Wu Y., Zhang, L., (2023), “Identification and validation of a major quantitative trait locus for spike length and compactness in the wheat (*Triticum aestivum* L.) line Chuanyu12D7”, *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1186183.

Wang Q., Li S., Li J., Huang, D., (2024), “The utilization and roles of nitrogen in plants”, *Forests*, *15*(7), 1191.

Wang Y., Peng Y., Lin J., Wang L., Jia Z., Zhang R., (2023), “Optimal nitrogen management to achieve high wheat grain yield, grain protein content, and water productivity: A meta-analysis”, *Agricultural Water Management*, *290*, 108587.

Wang Y., Wang D., Tao Z., Yang Y., Gao Z., Zhao G., Chang X., (2021), “Impacts of nitrogen deficiency on wheat (*Triticum aestivum* L.) grain during the medium filling stage: transcriptomic and metabolomic comparisons”, *Frontiers in plant science*, *12*, 674433.

Wang Z., Zhang H., Liu L., Li S., Xie J., Xue X., Jiang, Y., (2022), “ Screening of phosphate-solubilizing bacteria and their abilities of phosphorus solubilization and wheat growth promotion ”, *BMC microbiology*, *22*(1), 296.

Web 1, (2025) <https://cevreselgostergeler.csb.gov.tr/en/chemical-fertilizer-consumption-i-86059> , (Eriřim Tarihi : 03/07/2025).

Web 2, (2025)https://grdc.com.au/data/assets/pdf_file/0023/366251/GrowNote-Durum-West-3-Plant-Growth.pdf] , (Eriřim Tarihi : 02/06/2025).

Web 3, (2025),
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tarlabitkileri/Sayfalar/Detay.aspx?SayfaId=33>,
(Eriřim Tarihi : 08/05/2025).

Web 4, (2025),
https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ktae/Belgeler/BGT/Toprak_Analizleri_ve_Yorumlanmasi.pdf, (Eriřim Tarihi : 11/05/2025).

Wei X., Xie B., Wan C., Song R., Zhong W., Xin S., Song K., (2024), “Enhancing soil health and plant growth through microbial fertilizers: Mechanisms, benefits, and sustainable agricultural practices”, *Agronomy*, *14*(3), 609.

Wu Y., Zhao B., Li Q., Kong F., Du L., Zhou F., Yuan J., (2019), “Non-structural carbohydrates in maize with different nitrogen tolerance are affected by nitrogen addition”, *PLoS One*, *14*(12), e0225753.

Xu X., Du X., Wang F., Sha J., Chen Q., Tian G., Jiang Y., (2020), “Effects of potassium levels on plant growth, accumulation and distribution of carbon, and nitrate metabolism in apple dwarf rootstock seedlings”, *Frontiers in Plant Science*, *11*, 904.

Yang P., Condric A., Scranton S., Hebner C., Lu L., Ali M. A., (2024), “Utilizing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) to Advance Sustainable Agriculture”, *Bacteria*, *3*(4), 434-451.

Yang P., Condrich A., Scranton S., Hebner C., Lu L., Ali M. A., (2024), “Utilizing Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) to Advance Sustainable Agriculture”, *Bacteria*, 3(4), 434-451.

Yang T., Zhou Q., Wang Q., Wang X., Cai J., Huang M., Jiang, D., (2022), “Effects of nitrogen fertilizer on quality characteristics of wheat with the absence of different individual high-molecular-weight glutenin subunits (HMW-GSs)”, *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2178.

Yücel C., Baloch F. S., Hatipoğlu R., Özkan H., (2011), “Genetic analysis of preharvest sprouting tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum* L. emend. Thell.)”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 35(1), 9-22.

Zadoks J. C., Chang T. T., Konzak C. F., (1974), “A decimal code for the growth stages of cereals”, *Weed research*, 14(6), 415-421.

Zhang J., Liu, Q., Wang D., Zhang Z., (2023), “Soil microbial community, soil quality, and productivity along a chronosequence of *Larix principis-rupprechtii* forests” *Plants*, 12(16), 2913.

Zhang K. K., Zhou S. M., Zhang M., Shi S. S., Yin, J., (2016), “Effects of reduced nitrogen application and supplemental irrigation on photosynthetic characteristics and grain yield in high-yield populations of winter wheat”, *Ying Yong Sheng tai xue bao= The Journal of Applied Ecology*, 27(3), 863-872.

ÖZGEÇMİŞ

Nida ARSLAN, Lisans (2008-2012) ve Yüksek Lisans (2012-2017) derecesini Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde tamamladıktan sonra Doktora eğitimine 2018 yılında Gebze Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümünde başladı.



TEZ METNİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/ SUNUMLAR

Arslan, N., Gül Şeker, M., Akkaya, Ö., & Özden Çiftçi, Y. (2025). Natural microbial consortium construction strategy from rhizospheric agricultural soils to improve wheat (*Triticum durum* Desf.) seedling growth. *Turkish Journal of Botany*, 49(3), 205-219.

Arslan, N., Gül Şeker, M., Akkaya, Ö., & Özden Çiftçi, Improvement of Wheat Growth with a Microbial Consortium, Poster Sunumu, IMASCON 2024 AUTUMN, 29 Kasım 2024, 30 Kasım 2024.



EKLER

EK-A : İzolatların Koloni Morfolojileri

Tablo A.1: İzolatların koloni morfolojileri.

İzolat numarası	Lokasyon	Renk	Kenar	Yükselti	Doku	Şekil
1	1.	Krem	Düz	Tümsek	Mukoid	Yuvarlak
2	1.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
3	1.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mukoid	Yuvarlak
4	1.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
5	1.	Opak	Kıvrımlı	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
6	1.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Yuvarlak
7	1.	Beyaz	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Uzamış
8	1.	Krem	Düz	Düz	Mukoid	Yuvarlak
9	1.	Beyaz	Kıvrımlı	Topuzlu	Parlak	Yuvarlak
10	1.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mukoid	Uzamış
11	1.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
12	1.	Beyaz	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
13	1.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
14	1.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
15	1.	Beyaz	Dişli	Tümsek	Mukoid	Uzamış
16	1.	Krem	Düz	Tümsek	Mukoid	Uzamış
17	2.	Beyaz	Düz	Tümsek	Mukoid	Yuvarlak
18	2.	Beyaz	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
19	2.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Yuvarlak
20	2.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
21	2.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
22	2.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Yuvarlak
23	2.	Beyaz	Düz	Düz	Mukoid	Düzensiz
24	2.	Beyaz	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
25	2.	Krem	Düz	Düz	Mat	Düzensiz
26	3.	Beyaz	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
27	3.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
28	3.	Beyaz	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
29	3.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
30	3.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
31	3.	Beyaz	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
32	3.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Uzamış
33	3.	Krem	Kıvrımlı	Kabarık	Parlak	Uzamış

Tablo A.1 : Devam.

34	3.	Sarımsı	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
35	3.	Krem	Loplu	Topuzlu	Mat	Düzensiz
36	3.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Parlak	Yuvarlak
37	3.	Krem	Düz	Topuzlu	Mat	Düzensiz
38	3.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Parlak	Düzensiz
39	3.	Krem	Düz	Düz	Mat	Düzensiz
40	3.	Krem	Dalgalı	Düz	Mat	Uzamış
41	3.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	İpliksi
42	3.	Krem	Dalgalı	Düz	Mat	Düzensiz
43	3.	Krem	Düz	Düz	Mat	Uzamış
44	3.	Krem	Düz	Düz	Mat	Düzensiz
45	3.	Krem	Düz	Düz	Mat	Uzamış
46	3.	Beyaz	Dalgalı	Düz	Parlak	Yuvarlak
47	4.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
48	4.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
49	4.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Parlak	Düzensiz
50	4.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
51	4.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Düzensiz
52	4.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
53	4.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Yuvarlak
54	4.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Uzamış
55	5.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Yuvarlak
56	5.	Krem	Düz	Kabarık	Parlak	Yuvarlak
57	5.	Krem/sarımsı	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
58	5.	Krem	Düz	Kabarık	Mat	Yuvarlak
59	5.	Krem	Loplu	Tümsek	Mat	Uzamış
60	5.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
61	5.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Uzamış
62	5.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Parlak	Düzensiz
63	5.	Krem/sarımsı	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
64	5.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
65	5.	Krem	Düz	Topuzlu	Mat	Düzensiz
66	5.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
67	5.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
68	5.	Krem	Düz	Topuzlu	Mat	Düzensiz
69	5.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
70	5.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Yuvarlak
71	5.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Uzamış
72	6.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
73	6.	Krem/sarımsı	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
74	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
75	6.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
76	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz
77	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz

Tablo A.1: Devam.

78	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
79	6.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Uzamış
80	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Uzamış
81	6.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Yuvarlak
82	6.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
83	1.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
84	1.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
85	1.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Düzensiz
86	1.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
87	1.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
88	1.	Krem	Loplu	Tümsek	Mat	Düzensiz
89	1.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Düzensiz
90	1.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
91	1.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
92	1.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Nokta
93	2.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Nokta
94	2.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz
95	2.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
96	2.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
97	2.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
98	2.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Nokta
99	2.	Krem	Düz	Düz	Mat	Düzensiz
100	2.	Krem	Düz	Düz	Mat	Düzensiz
101	2.	Krem	İpliksi	Düz	Mat	Düzensiz
102	2.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Düzensiz
103	2.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
104	2.	Krem	Loplu	Topuzlu	Mat	Düzensiz
105	3.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
106	3.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
107	3.	Krem	Loplu	Topuzlu	Mat	Düzensiz
108	3.	Krem	İpliksi	Tümsek	Mat	Düzensiz
109	3.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
110	3.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Uzamış
111	3.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
112	3.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
113	3.	Krem	Düz	Topuzlu	Mat	Düzensiz
114	3.	Krem	Loplu	Tümsek	Mat	Yuvarlak
115	3.	Beyaz	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
116	4.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
117	4.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Yuvarlak
118	4.	Krem	Loplu	Tümsek	Mat	Yuvarlak
119	4.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
120	4.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
121	4.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz

Tablo A.1: Devam.

122	5.	Krem	Kıvrımlı	Tümsek	Mat	Düzensiz
123	5.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Düzensiz
124	5.	Krem	Loplu	Düz	Parlak	Düzensiz
125	5.	Krem	Kıvrımlı	Topuzlu	Mat	Düzensiz
126	5.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Düzensiz
127	5.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Düzensiz
128	5.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz
129	5.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Düzensiz
130	5.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Yuvarlak
131	5.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Düzensiz
132	5.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Düzensiz
133	6.	Krem	Düz	Düz	Mat	Yuvarlak
134	6.	Krem	İpliksi	Düz	Mat	Yuvarlak
135	6.	Krem	Düz	Düz	Parlak	Yuvarlak
136	6.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Düzensiz
137	6.	Krem	Loplu	Düz	Mat	Yuvarlak
138	6.	Krem	Kıvrımlı	Düz	Mat	Düzensiz
139	6.	Krem	İpliksi	Düz	Mat	Rizoid
140	6.	Opak	Düz	Düz	Parlak	Düzensiz
141	6.	Krem	İpliksi	Düz	Mat	Düzensiz
142	6.	Krem	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak
143	6.	Krem	Düz	Tümsek	Parlak	Yuvarlak
144	6.	Krem	İpliksi	Tümsek	Mat	Rizoid
145	6.	Beyaz	Düz	Tümsek	Mat	Yuvarlak

EK-B: İzolatların Ön Tanımlama Test Sonuçları

Tablo B.1: 37°C’de izole edilen suşların ön tanımlama test sonuçları.

İzolat numarası	İzolat kodu	Gram boyama	Spor boyama	Oksidaz	Katalaz
1	TSR1A-1	Basil / (-)	-	-	+
2	TSR1A-2	Kok / (-)	-	-	+++
3	TSR1A-3	Kok / (-)	-	+	++
4	TSR1A-4	Basil / (+)	+	-	+
5	TSR1A-5	Basil / (-)	-	+	-
6	TSR1A-6	Basil / (+)	+	+	-
7	TSR1A-7	Basil / (+)	+	+	+++
8	TSR1A-8	Basil / (-)	-	+	+
9	TSR1A-9	Basil / (-)	-	+	++
10	TSR1A-10	Basil / (-)	-	-	+
11	TSR1A-11	Basil / (+)	-	-	+
12	TSR1A-12	Basil / (+)	-	-	+
13	TSR1A-13	Basil / (-)	-	-	+
14	TSR1A-14	Basil / (-)	-	-	+
15	TSR1A-15	Basil / (-)	-	-	++
16	TSR1A-16	Kok / (+)	-	+	++
17	TSR2A-17	Basil / (+)	+	+	+
18	TSR2A-18	Basil / (-)	-	+	+++
19	TSR2A-19	Basil / (+)	+	+	-
20	TSR2A-20	Basil / (-)	-	-	++
21	TSR2A-21	Basil / (+)	+	-	+
22	TSR2A-22	Basil / (-)	-	+	++
23	TSR2A-23	Basil / (+)	-	-	+
24	TSR2A-24	Basil / (+)	+	-	-
25	TSR2A-25	Basil / (+)	+	+	-
26	TSR3A-26	Basil / (+)	+	+	+
27	TSR3A-27	Basil / (+)	+	+	-
28	TSR3A-28	Basil / (-)	-	+	++
29	TSR3A-29	Basil / (+)	+	-	++
30	TSR3A-30	Basil / (+)	+	-	-
31	TSR3A-31	Basil / (-)	-	+	+++
32	TSR3A-32	Basil / (-)	-	+	+++
33	TSR3A-33	Basil / (+)	-	-	-
34	TSR3A-34	Basil / (-)	-	+	++
35	TSR3A-35	Basil / (+)	+	-	-
36	TSR3A-36	Basil / (+)	+	-	++
37	TSR3A-37	Basil / (+)	+	+	+++
38	TSR3A-38	Basil / (-)	-	-	-
39	TSR3A-39	Basil / (+)	+	-	-
40	TSR3A-40	Basil / (-)	-	+	+++
41	TSR3A-41	Basil / (-)	-	-	+++
42	TSR3A-42	Basil / (+)	-	-	+

Tablo B.1: Devam.

43	TSR3A-43	Basil / (-)	-	-	+
44	TSR3A-44	Basil / (+)	-	-	+
45	TSR3A-45	Basil / (+)	-	-	+
46	TSR3A-46	Basil / (-)	-	-	+
47	TSR4A-47	Basil / (-)	-	+	-
48	TSR4A-48	Basil / (+)	-	-	+
49	TSR4A-49	Basil / (-)	-	+	+
50	TSR4A-50	Basil / (+)	-	-	+
51	TSR4A-51	Basil / (+)	+	-	+
52	TSR4A-52	Basil / (+)	-	-	+
53	TSR4A-53	Basil / (+)	+	-	+
54	TSR4A-54	Basil / (+)	-	-	+++
55	TSR5A-55	Basil / (-)	-	-	++
56	TSR5A-56	Basil / (+)	+	+	++
57	TSR5A-57	Basil / (+)	-	-	++
58	TSR5A-58	Basil / (+)	+	-	++
59	TSR5A-59	Basil / (+)	-	-	++
60	TSR5A-60	Basil / (+)	-	-	+
61	TSR5A-61	Basil / (-)	-	-	+++
62	TSR5A-62	Basil / (-)	-	-	++
63	TSR5A-63	Basil / (-)	-	-	+
64	TSR5A-64	Basil / (-)	-	-	++
65	TSR5A-65	Basil / (+)	-	-	+
66	TSR5A-66	Basil / (+)	-	-	+
67	TSR5A-67	Basil / (+)	-	-	+
68	TSR5A-68	Basil / (+)	-	+	+
69	TSR5A-69	Basil / (+)	-	+	+
70	TSR5A-70	Basil / (+)	+	-	+
71	TSR5A-71	Basil / (+)	+	-	+
72	TSR6A-72	Basil / (+)	-	+	+
73	TSR6A-73	Basil / (+)	+	-	-
74	TSR6A-74	Basil / (+)	+	-	+
75	TSR6A-75	Basil / (+)	+	-	+
76	TSR6A-76	Basil / (+)	-	-	+
77	TSR6A-77	Basil / (+)	-	+	++
78	TSR6A-78	Basil / (+)	+	-	++
79	TSR6A-79	Basil / (+)	+	-	++
80	TSR6A-80	Basil / (-)	-	-	++
81	TSR6A-81	Basil / (-)	-	-	++
82	TSR6A-82	Basil / (-)	-	-	++

Tablo B.2: 30°C’de izole edilen suşların ön tanımlama test sonuçları.

83	TSR1B-83	Basil / (+)	-	-	++
84	TSR1B-84	Basil / (+)	-	+	++
85	TSR1B-85	Basil / (-)	-	+	++
86	TSR1B-86	Basil / (-)	-	+	+
87	TSR1B-87	Basil / (-)	-	-	+++
88	TSR1B-88	Basil / (+)	-	-	+++
89	TSR1B-89	Basil / (+)	-	-	++
90	TSR1B-90	Basil / (+)	+	-	+
91	TSR1B-91	Basil / (-)	-	+	++
92	TSR1B-92	Basil / (-)	-	+	+++
93	TSR2B-93	Basil / (-)	-	+	+++
94	TSR2B-94	Basil / (+)	+	-	+
95	TSR2B-95	Basil / (-)	-	+	+++
96	TSR2B-96	Basil / (+)	+	-	+
97	TSR2B-97	Basil / (+)	-	-	+
98	TSR2B-98	Basil / (-)	-	+	+++
99	TSR2B-99	Basil / (+)	-	-	+
100	TSR2B-100	Basil / (-)	-	-	+++
101	TSR2B-101	Basil / (+)	+	-	++
102	TSR2B-102	Basil / (-)	-	-	+
103	TSR2B-103	Basil / (-)	-	+	+++
104	TSR2B-104	Basil / (-)	-	-	+
105	TSR2B-105	Basil / (+)	+	+	+++
106	TSR3B-106	Basil / (-)	+	+	+++
107	TSR3B-107	Basil / (-)	-	-	++
108	TSR3B-108	Basil / (+)	-	+	++
109	TSR3B-109	Kok / (-)	-	-	+++
110	TSR3B-110	Basil / (-)	-	+	+++
111	TSR3B-111	Basil / (+)	-	-	++
112	TSR3B-112	Basil / (+)	+	-	+
113	TSR3B-113	Basil / (-)	-	-	+
114	TSR3B-114	Basil / (+)	-	-	+++
115	TSR3B-115	Basil / (+)	+	-	-
116	TSR4B-116	Basil / (-)	-	+	+++
117	TSR4B-117	Basil / (+)	+	+	+++
118	TSR4B-118	Basil / (+)	+	-	+++
119	TSR4B-119	Basil / (+)	+	-	+
120	TSR4B-120	Basil / (+)	+	-	-
121	TSR4B-121	Basil / (-)	-	+	+++
122	TSR5B-122	Basil / (-)	-	+	+++
123	TSR5B-123	Basil / (+)	+	-	+++
124	TSR5B-124	Basil / (+)	+	-	+++
125	TSR5B-125	Basil / (+)	+	-	+
126	TSR5B-126	Basil / (+)	-	-	+++
127	TSR5B-127	Basil / (+)	-	-	+++
128	TSR5B-128	Basil / (-)	-	-	+

Tablo B.2: Devam.

129	TSR5B-129	Basil / (+)	+	-	+
130	TSR5B-130	Basil / (+)	+	-	+
131	TSR5B-131	Basil / (+)	+	-	+
132	TSR5B-132	Basil / (+)	+	-	++
133	TSR6B-133	Basil / (-)	-	-	+++
134	TSR6B-134	Basil / (+)	+	-	++
135	TSR6B-135	Basil / (+)	+	+	+++
136	TSR6B-136	Kok / (+)	-	-	-
137	TSR6B-137	Basil / (+)	-	-	++
138	TSR6B-138	Basil / (+)	-	+	+++
139	TSR6B-139	Basil / (+)	-	-	-
140	TSR6B-140	Basil / (-)	-	-	+
141	TSR6B-141	Basil / (+)	+	-	+
142	TSR6B-142	Basil / (-)	-	-	+++
143	TSR6B-143	Basil / (-)	-	-	-
144	TSR6B-144	Basil / (+)	+	-	+
145	TSR6B-145	Basil / (+)	+	-	+