



T.C.

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENİZEL HABİTATTAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TUZA
TOLERANSLARI FARKLI BAZI ARPA TÜRLERİNİN
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

MÜGE TEKER YILDIZ

Tez Danışmanı

PROF. DR. OKAN ACAR

ÇANAKKALE – 2023



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**DENİZEL HABİTATTAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TUZA
TOLERANSLARI FARKLI BAZI ARPA TÜRLERİNİN FİZYOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

MÜGE TEKER YILDIZ

Tez Danışmanı

PROF. DR. OKAN ACAR

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi BAP kurumu tarafından
desteklenmiştir.

Proje No: FDK-2021-3684

ÇANAKKALE – 2023



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Müge TEKER YILDIZ tarafından Prof. Dr. Okan ACAR yönetiminde hazırlanan ve 15/12/2023 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Denizel Habitattan İzole Edilen Bakterilerin Tuza Toleransları Farklı Bazı Arpa Türlerinin Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Okan ACAR

(Danışman)

Prof. Dr. Cüneyt AKI

Prof. Dr. Aşkı Hediye ÇETİNEL

Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU

Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ

.....

.....

.....

.....

.....

Tez No :

Tez Savunma Tarihi : 15/12/2023

Prof. Dr. Ahmet Evren ERGİNAL

Enstitü Müdürü

.././2023

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Müge TEKER YILDIZ

15/12/2023

TEŞEKKÜR

Doktora tezim süresince, tüm bilgi birikimini bana aktaran ve beni eğiten, benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen, hoşgörüsü ve yönlendirici tüm fikirleriyle çalışmamın bugünlere gelmesinde büyük desteği olan saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Okan ACAR'a ve tezin her aşamasında bilgi ve desteklerini esirgemeyen sayın Prof. Dr. Cüneyt AKI ve tezin tüm aşamasında bilgisi ve yönlendirmeleriyle büyük katkıları olan Prof. Dr. Aşkın Hediye ÇETİNEL'e sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim.

Bu süreçte doktora tezim ile ilgili tüm destek ve yardımlarını esirgemeyen, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji laboratuvarında cihazların kullanımı ve ayrıca her koşulda bana sağladığı bilgi ve manevi destekleri için değerli hocam Prof. Dr. Nurcihan HACIOĞLU DOĞRU'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen, yardımlarıyla daima yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarım Uzman Biyolog Eda GÜNAY, Uzman Biyolog Gamze BALTACIER ve bazı analiz aşamalarında yardımlarını esirgemeyen Öğr.Gör. İlke KARAKAŞ'a çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimimde hak kazandığım, YÖK 100/2000 Öncelikli Alan Doktora Burs Programı, TÜBİTAK BİDEB 2211-A Yurt İçi Lisansüstü (Doktora) Burs Programı ve Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi FDK-2021-3684 no'lu proje kapsamında aldığım destekler için sonsuz minnetlerimi sunarım.

Hayatımın her evresinde bana destek olan ve aldığım kararlarda yanımda olan değerli annem Nuriye TEKER, babam Zevcettin TEKER'e ve her daim yanımda olan Levent TEKER, Bülent TEKER ve Yasemin TEKER'e ayrıca bu süreçte bana manevi desteklerini esirgemeyen annem Zeliha Şenay YILDIZ ve babam Şuaip YILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Son olarak, doktora eğitimim sürecinde tüm zorlukları benimle göğüsleyen, sonsuz sabrı, desteği ve sevgisiyle daima yanımda olan, bana olan inancıyla güçlü olmamı sağlayan ve hayatıma yön vermemde büyük etkisi olan sevgili eşim Uğur YILDIZ'a çok teşekkür ederim.

Müge TEKER YILDIZ
Çanakkale, Aralık 2023

ÖZET

DENİZEL HABİTATTAN İZOLE EDİLEN BAKTERİLERİN TUZA TOLERANSLARI FARKLI BAZI ARPA TÜRLERİNİN FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Müge TEKER YILDIZ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Okan ACAR

15/12/2023, 132

Tuz stresi, tüm dünyada sürdürülebilir tarımı olumsuz yönde etkileyerek çevreyi tehdit eden abiyotik bir strestir. Bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR), çevresel streslere karşı bitki stres direncini arttırmaktadır. Bu tez çalışmasında Çanakkale’de denizel habitattan izole edilen bakteri strainleri (*Bacillus nealsonii* ve *Micrococcus luteus*), artan tuz konsantrasyonları altında (0, 100 ve 300 mM NaCl) deniz arpası (*Hordeum marinum*) ve iki kültür arpasına (*Hordeum vulgare* cv. Ocak ve cv. İnce-04) inokülasyonu ile, fizyolojik (kök uzunluğu, gövde uzunluğu, biyokütle, yaş ağırlık ve kuru ağırlık) ve biyokimyasal (toplam protein içeriği, pigment içeriği, lipit peroksidasyon miktarı (TBARS), hücre zarı geçirgenliği, hidrojen peroksit miktarı (H₂O₂), reaktif oksijen türlerinin (ROT) histokimyasal belirlenmesi, antioksidan enzim aktiviteleri (peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT)) ve izoenzim profilleri (süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz)) analizlerin etkisi araştırılmıştır. Sonuçlarımız, glikofit olan *H. vulgare* tuz stresi altında PGPR aracılı kök-gövde uzunluğu, biyokütle, yaş ağırlık, kuru ağırlık ve klorofil içeriğinin arttığını, TBARS ve H₂O₂ miktarının azaldığını göstermiştir. *M. luteus* inokülasyonu ile, POX aktivitesi sadece Ocak çeşidinde, CAT aktivitesi ise sadece İnce-04’te artan aktivitelere sahip olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak PGPR ile inokülasyon ROT üretimini azaltarak tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığını ve arpada biyogübre olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Deniz Arpa, Kültür Arpa, Tuz Stresi, Bitki Büyümesini Teşvik Eden Rizobakteriler, Antioksidan Savunma Sistemi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF BACTERIA ISOLATED FROM THE MARINE HABITAT ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF SOME BARLEY SPECIES WITH DIFFERENT SALT TOLERANCE

Müge TEKER YILDIZ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Biological Science

Advisor: Prof. Dr. Okan ACAR

15/12/2023, 132

Salt stress is an abiotic stress that threatens the environment by negatively affecting sustainable agriculture all over the world. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) increase plant stress resistance against environmental stresses. In this thesis study, bacterial strains (*Bacillus nealsonii*, *Micrococcus luteus*) isolated from the marine habitat in Çanakkale were inoculated into sea barley (*Hordeum marinum*) and two cultured barley (*Hordeum vulgare* cv. Ocak, cv. İnce-04) under increasing salt concentrations, and the effects of physiological (root length, stem length, biomass, dry and fresh weight) and biochemical (total protein content, pigment content, lipid peroxidation (TBARS), cell membrane permeability, hydrogen peroxide (H₂O₂), histochemical determination of reactive oxygen species (ROS), antioxidant enzyme activities (peroxidase (POX), catalase (CAT)) and isoenzyme profiles (superoxide dismutase, CAT, POX) analyzes were investigated. Our results showed that PGPR-mediated root-stem length, biomass, dry weight, and chlorophyll content increased, and the amount of TBARS and H₂O₂ decreased, under salt stress of the glycophyte *H. vulgare*. Especially with *M. luteus* inoculation, POX activity was only observed in Ocak cultivar, CAT activity was found to increase only in İnce-04. As a result, inoculation with PGPR showed that it reduces the negative effects of salt stress by reducing the production of ROS and can be used as biofertilizer in barley.

Keywords: Sea Barley, Cultured Barley, Salt Stress, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Antioxidant Defense System.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

1.1. Bitkilerde Çevresel Stresler.....	1
1.2. Tuz Stresi.....	3
1.3. Bitkilerde Tuz Stresinin Etkileri	5
1.3.1. Tuz Stresinin Fizyolojik Etkileri.....	6
Bitki Büyümesi ve Gelişimine Etkisi.....	6
1.3.2. Tuz Stresinin Biyokimyasal Etkileri.....	7
HücreseL Düzeyde Ozmotik Stres ve İyon Toksisitesi.....	7
Organel Düzeyde Fotosentez ve Solunuma Etkisi.....	9
Bitkilerde ROT Oluşumu ve Oksidatif Stres.....	10
1.4. Bitkilerde Tuz Tolerans Mekanizmaları.....	11
1.4.1. Fizyolojik Adaptasyonlar.....	12
1.4.2. Biyokimyasal Adaptasyonlar.....	13
Ozmoprotektanlar / Uyumlu Çözünen Maddelerin Birikimi.....	13
İyon Toksisitesinden Korunmak için İyon Seçici Absorpsiyon ve İyon Bölümlendirme.....	14
Oksidatif Stresten Korunmak için ROT'ların Antioksidan Enzim Sistemiyle Temizlenmesi.....	14
1.4.3. Moleküler Adaptasyonlar.....	16

Efektör Moleküller.....	18
Regülatör Moleküller.....	18
1.5. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR).....	18
1.6. Tuz Stresi Altındaki Bitkilerde PGPR'lerin İşlevi.....	22
1.7. Tarımda PGPR Uygulamalarının Gelecekteki Potansiyeli.....	24
1.8. Arpanın Botanik Tanımı ve Zirai Önemi.....	24
1.8.1. Arpa Tarımı ve Verimi.....	25
1.8.2. Dünya'da ve Türkiye'deki Arpa Yetiştiriciliği.....	26

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Arpada Tuz Toleransında Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Araştırmalar.....	29
2.2. Arpanın Tuz Toleransında PGPR'lerin Fizyolojik, Biyokimyasal ve Genetik Etkileri.....	33

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali.....	40
3.1.1. <i>Hordeum vulgare</i> L. Çeşitlerinde Tuz Toleransının Belirlenmesi.....	40
3.2. Denizel Habitattan Toprak Örneklerinin Alınması.....	41
3.2.1. Bakteri İzolasyonunda Kullanılan Bitkiler.....	44
3.2.2. Halofit Bitki Topraklarından Bakteri İzolasyonu ve Saflaştırılması.....	46
3.3. Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyonu.....	50
3.3.1. Gram Boyama.....	50
3.3.2. Oksidaz Testi.....	50
3.3.3. Katalaz Testi.....	51
3.3.4. İndol Testi.....	51
3.3.5. Sitrat Testi.....	51
3.3.6. Voges- Proskauer (VP) Testi.....	51
3.3.7. Hidrojen Sülfid Testi.....	52
3.3.8. Fenol Testi (Karbonhidrat Fermentasyon Testi).....	52
3.3.9. Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi.....	52

3.3.10.	Bakterilerin Tuz Tolerans Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	53
3.4.	Bakterilerin PGPR Olma Özelliklerinin Belirlenmesi.....	53
3.4.1.	ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi.....	53
3.4.2.	Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi.....	53
3.4.3.	Bakterilerin Fosfor Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	54
3.4.4.	Bakterilerin Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	54
3.4.5.	Bakterilerin İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	54
3.4.6.	Siderofor Üretiminin Belirlenmesi.....	55
3.5.	PGPR'lerin Moleküler Tanımlanması.....	55
3.6.	Bakterilerin Arpa Türlerine İnokülasyonu.....	56
3.6.1.	Bakteri İzolatların Seçimi ve İnokülasyon Denemeleri	56
3.6.2.	Tohum Sterilizasyonu, İnokülasyonu ve Bitki Büyüme Koşulları.....	57
3.7.	Fizyolojik Analizler.....	58
3.7.1.	Gövde-Kök Uzunluğu	58
3.7.2.	Biyokütle.....	59
3.7.3.	Yaş ağırlık.....	59
3.7.4.	Kuru ağırlık.....	59
3.7.5.	Reaktif Oksijen Türlerinin Histokimyasal Belirlenmesi.....	59
3.8.	Biyokimyasal Analizler.....	59
3.8.1.	Toplam Protein Miktarı.....	59
3.8.2.	Pigment Miktarının Belirlenmesi.....	60
3.8.3.	Hücre Zarı Geçirgenliği (HZG).....	61
3.8.4.	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarının belirlenmesi.....	61
3.8.5.	Lipit Peroksidasyon Miktarının Belirlenmesi.....	61
3.8.6.	Katalaz Aktivitesi (CAT; EC 1.11.1.6).....	62
3.8.7.	Peroksidaz Aktivitesi (POX; EC 1.11.1.7).....	62
3.9.	İzoenzim Profillerinin Belirlenmesi	62
3.9.1.	Süperoksit Dismutaz (SOD) İzoenzim Profili.....	62
3.9.2.	Peroksidaz (POX) İzoenzim Profili.....	63
3.9.3.	Katalaz (CAT) İzoenzim Profili.....	63
3.10.	İstatistik Analizi.....	63

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI

64

4.1. Toprak Örneklerinin Alınması ve Bakteri İzolasyonu.....	64
4.2. Bakteri İzolatların Tanımlanması	65
4.2.1. Bakteri İzolatların Morfolojik ve Fizyolojik Test Sonuçları	65
4.2.2. Bakteri İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları.....	66
4.2.3. Bakterilerin PGPR Olma Özelliklerinin Belirlenmesi.....	73
4.2.4. Bakterilerin 16S rDNA Dizi Analizi.....	78
4.3. Fizyolojik Analizler	80
4.3.1. Kök-Gövde Uzunluğu	80
4.3.2. Yaş ve Kuru Ağırlık.....	82
4.3.3. Biyokütle.....	84
4.3.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Histokimyasal Belirlenmesi.....	85
4.4. Biyokimyasal Analizler	87
4.4.1. Toplam Protein Miktarı.....	87
4.4.2. Pigment miktarının belirlenmesi	88
4.4.3. Hücre Zarı Geçirgenliği (HZG)	91
4.4.4. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı.....	92
4.4.5. Lipit Peroksidasyon Miktarı (TBARS).....	93
4.4.6. Katalaz Aktivitesi (CAT; EC 1.11.1.6).....	94
4.4.7. Peroksidaz Aktivitesi (POX; EC 1.11.1.7).....	95
4.5. İzoenzim Profilleri	96
4.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) İzoenzim Profili.....	96
4.5.2. Peroksidaz (POX) İzoenzim Profili	100
4.5.3. Katalaz (CAT) İzoenzim Profili.....	105

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER

111

KAYNAKÇA	116
----------------	-----

SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
μL	Mikrolitre
$^1\text{O}^2$	Singlet oksijen
AOT	Aktif oksijen türleri
APX	Askorbat peroksidaz
ASA	Askorbat
BSA	Bovine serum albumin
DAB	3, 3' diaminobenzidine tetrahydrochloride
DHAR	Dehidro askorbat redüktaz
dk	Dakika
E.C.	Uluslararası enzim komisyonu
EC	Elektrik iletkenliği
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
g	Gram
GPX	Guaiacol peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG	Glutasyon disülfid
H_2O_2	Hidrojen peroksit
ha	Hektar alan
$\text{HO}\cdot$	Hidroksil radikali
HZG	Hücre zarı geçirgenliği
Kontrol	Bakteri uygulanmayan
kob	Koloni sayısı
mM	Milimolar
MDHA	Monodehidroaskorbat
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
mg	Miligram
mL	Mililitre
NaCl	Sodyum klorür

NBT	Nitro blue tetrazolium
$O_2^{\cdot-}$	Süperoksit radikali
POX	Peroksidaz
PMSF	Phenylmethyilsulfonyl flüorid
pmol/L	Pikomol/litre
ROT	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SPAD	Toplam klorofil ölçen cihaz
SPSS	Statistical package for the social sciences
STD	1 ünite standart
TBA	Tiobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik asit reaktif madde
TCA	Trikloroasetik asit
Top kl	Toplam klorofil
IU	Uluslararası ünite
U	Ünite standart

TABLULAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Türkiye'deki arpa tarımının ekim, üretim ve verim alanları	26
Tablo 2	Dünyadaki arpanın yıllara göre ekim, üretim ve verim alanları	27
Tablo 3	Dünyadaki yıllık arpa üretiminde önde gelen ülkeler	28
Tablo 4	Araştırma Enstitülerinden temin edilen <i>Hordeum vulgare</i> L. çeşitleri	40
Tablo 5	Çanakkale ili Lapseki kıyı zone ve Çardak Lagünü lokasyon bilgisi	42
Tablo 6	Denizel habitatlardan toplanan bitkilerin kök rizosferindeki toprakların tuzluluk ($\mu\text{s/cm}$) değerleri	44
Tablo 7	Çanakkale ili Lapseki kıyı zone ve Çardak Lagünü'nden toplanan toprak örneklerinin fiziksel ve biyokimyasal özellikleri	44
Tablo 8	Farklı halofil besiyerleri.	47
Tablo 9	Bakteri izolatları ve izole edildikleri bölgeler	47
Tablo 10	16S rDNA'ya ait primer dizileri	56
Tablo 11	16S rDNA'ya ait PCR bileşenleri	56
Tablo 12	İzolatların morfolojik ve fizyolojik özellikleri	64
Tablo 13	İzolatların biyokimyasal testleri	67
Tablo 14	İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri (mm)	69
Tablo 15	İzolatların NaCl toleranslarının belirlenmesi	71
Tablo 16	İzolatların PGPR olma özellikleri	74
Tablo 17	Bakteri izolatların 16S rRNA dizilimine göre moleküler tanımlanması	79
Tablo 18	<i>H. marinum</i> ve <i>H. vulgare</i> türlerinde SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.	98
Tablo 19	<i>H. marinum</i> ve <i>H. vulgare</i> türlerinde POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.	102

Tablo 20	<i>H. marinum</i> ve <i>H. vulgare</i> türlerinde CAT izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler.	107
Tablo 21	<i>H. marinum</i> ve <i>H. vulgare</i> türlerinde fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin korelasyon matrisi	110



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Bitkileri etkileyen çevresel stres faktörleri	2
Şekil 2	Dünyadaki toprak tuzluluğundan etkilenen ülkeler	4
Şekil 3	Tuz stresinin bitkiler üzerindeki morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve verimliliğine etkileri	6
Şekil 4	Bitki hücrelerinde erken evrede gerçekleşen ozmotik ve iyon toksisitesi	8
Şekil 5	ROT'lerin bitki üzerindeki etkileri	11
Şekil 6	Bitkilerin tuzluluk stresi altında biyokimyasal mekanizmalar ile ROT' ların süpürülmesi	15
Şekil 7	Bitkiler tuz tolerans mekanizmalarındaki verdiği tepkilere genel bakış	17
Şekil 8	Tuz stresi altındaki bitkilerin PGPR aracılı tuz toleransı	23
Şekil 9	Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün sahil zonu	42
Şekil 10	Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün sahil zonundan toprak örneği alınması	43
Şekil 11	Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün sahil zonundan toplanan bitki türleri	43
Şekil 12	Çanakkale ili Çardak lagün kıyı habitatından toplanan halofit bitki türleri	45
Şekil 13	Toprak örneklerinin ekimlerinin katı halofil besiyeri yayma plaka yöntemine göre yapılışı	47
Şekil 14	İzolatların farklı halofil besiyerinde koloni morfolojileri	49
Şekil 15	28 günlük <i>Hordeum vulgare</i> (cv. Ocak, cv. İnce-04) ve <i>Hordeum marinum</i> türlerinde Kontrol (Bakterisiz grup), <i>Micrococcus luteus</i> (0, 100, 300 mM NaCl) ve <i>Bacillus nealsonii</i> (0, 100, 300 mM NaCl) uygulamalarının fide gelişimi üzerine etkileri.	58
Şekil 16	BSA standart protein eğrisi	60
Şekil 17	İzolatların biyokimyasal test görüntüleri	69
Şekil 18	İzolatların antibiyotik duyarlılık test görüntüleri	71

Şekil 19	İzolatların tuz tolerans kapasitelerinin belirlenmesini ait görüntüleri	73
Şekil 20	İzolatların azot fiksasyonu ve CAS agarda siderofor üretimi	76
Şekil 21	İzolatların NBRIP besi ortamında fosfor üretimi	77
Şekil 22	İzolatların IAA üretim miktarlarındaki renk değişimi	77
Şekil 23	16S rDNA PCR ürünleri jel görüntüsü	79
Şekil 24	Mega yöntemi kullanılarak 16S rRNA sekans sonuçları ile oluşturulan filogenetik ağaç	80
Şekil 25	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının gövde uzunluğu üzerine etkisi	81
Şekil 26	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkisi	82
Şekil 27	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının yaş ağırlık üzerine etkileri	83
Şekil 28	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının kuru ağırlık üzerine etkileri	84
Şekil 29	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının biyokütle üzerine etkileri	85
Şekil 30	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının H ₂ O ₂ ve O ₂ ⁻ birikiminin histokimyasal belirlenmesi.	86
Şekil 31	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının toplam protein miktarı üzerine etkileri	88

Şekil 32	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının pigment miktarına etkileri	90
Şekil 33	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının hücre zarı geçirgenliğine etkisi	92
Şekil 34	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarına etkileri	93
Şekil 35	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının lipit peroksidasyon (TBARS) miktarına etkileri	94
Şekil 36	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının katalaz aktivitesi (CAT) üzerine etkileri	95
Şekil 37	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri	96
Şekil 38	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının SOD izoenzim aktivitesine etkisi.	97
Şekil 39	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının SOD izoenzim jel görüntüleri	99
Şekil 40	Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının SOD izoenzim profilleri.	100
Şekil 41	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının POX izoenzim aktivitesine etkisi	101

Şekil 42	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının POX izoenzim jel görüntüleri	103
Şekil 43	Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının POX izoenzim profilleri.	105
Şekil 44	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının CAT izoenzim aktivitesine etkisi	106
Şekil 45	Tuz stresi (0 mM, 100 mM, 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının CAT izoenzim jel görüntüleri	108
Şekil 46	Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (<i>H. marinum</i> , <i>H. vulgare</i> cv. Ocak, <i>H. vulgare</i> cv. İnce-04) ML (<i>Micrococcus luteus</i>) ve BN (<i>Bacillus nealsonii</i>) uygulamalarının CAT izoenzim profilleri.	109
Şekil 47	Farklı tuz stresi konsantrasyonlarına maruz bırakılan glikofit <i>H. vulgare</i> (cv. İnce-04 ve cv. Ocak) çeşitlerine, Çardak Lagünü ve Lapseki kıyı zonunda yayılış gösteren halofit bitkilerin kök zonlarındaki topraklardan izole edilen BN ve ML'nin inokülasyonu ile fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin şematik gösterimi.	115

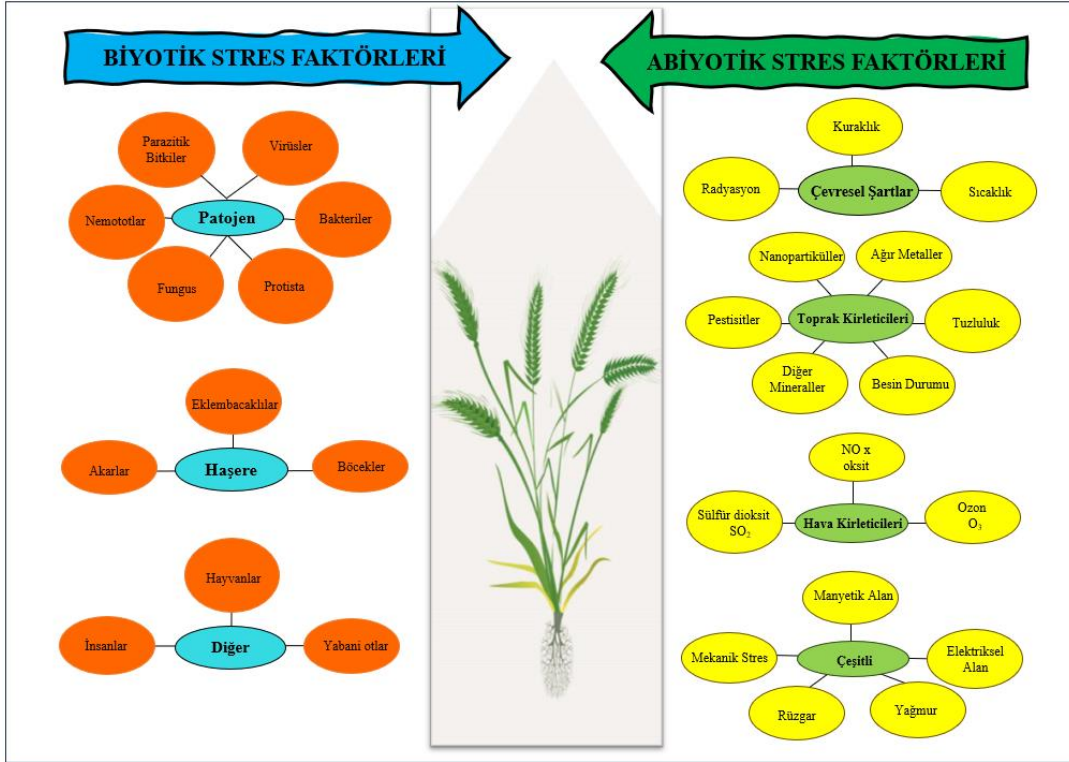
BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1.1. Çevresel Stres Faktörleri

Çevresel stresler, sürdürülebilir tarım tehdidi, küresel iklim krizi ve giderek azalan tarım arazileri nedeniyle dünya çapında büyüyen bir sorundur. Özellikle küresel iklim değişikliğindeki artış nedeniyle bitki ekosistemlerini olumsuz yönde etkilemektedir. Çevresel koşullar optimum şartlarda bitkilerin büyümesini pozitif yönde etkilerken, bitki için optimum koşul dışındaki her negatif olan şart ise büyüme ve gelişimi engelleyip bitkinin strese girmesine neden olmaktadır. Bununla birlikte, bitkiler tohumdan fide aşamasına kadar çok sık çevresel stres faktörleri ile karşı karşıya kalmaktadır. Bu çevresel stresler abiyotik (kuraklık, tuzluluk, su fazlalığı, sıcaklık, ışık, radyasyon) ve biyotik stres faktörleri (bakteriler, virüsler, mantarlar, böcekler, patojenler ve herbivorlar) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Georgieva ve Vasileva, 2023) (Şekil 1).

Biyotik streslerden bakteri, virüs, nematodlar, mantar ve yabancı otlar bitkide patojen etkisi yaratarak bitkiden besin elementlerini emerek yaprakların dökülmesi, kök çürümesi, yaprak ve gövde üzerinde lekeler halinde hastalıklar oluşturarak bitkiye zarar verir ve ciddi verim kayıplarına neden olur (Pandey vd., 2017). Bitkiler biyotik stres ile karşılaştığında, saldırı olarak algılar ve kendisini savunmak için çeşitli hormonal yolları aktive eder (Saijo vd., 2020). Bu yollardan bitkilerde önemli bir yere sahip olan jasmonik asit (JA) hormonu bitkide sinyal yollarını indükler ve savunma genlerini aktive ederek bazı metabolitlerin üretimini artırır. Böylece böceklere, mantarlara ve bazı bakteriyel patojenlere karşı bitki kendisini savunmaya alır (Saijo vd., 2020). Bir başka savunma hormonu olan salisilik asit (SA) ise biyotik stres ile karşılaştığında savunma için gerekli olan proteinlerin gen ekspresyonunu artırır (Hao vd., 2018). Ayrıca bitkilerin stresi algılamasıyla birlikte biyotik stres savunmasında absisik asit (ABA), oksin, brassinosteroidler, sitokininler, gibberellinler gibi fitohormonlar savunma mekanizmalarını tetiklediği bildirilmiştir (Saijo vd., 2020).



Şekil 1. Bitkileri etkileyen çevresel stres faktörleri (Georgieva ve Vasileva, 2023'ten değiştirilerek).

Kuraklık, sıcaklık, tuzluluk ve radyasyon tarımsal üretimde verimi ciddi şekilde etkileyen başlıca abiyotik stres faktörleridirler (Georgieva ve Vasileva, 2023). Bunlardan en yaygın görülen ve en yıkıcı olan tuzluluk stresi tüm Dünya topraklarını yaklaşık %20'sini etkileyerek bitkilerde üretim ve verim arasındaki bağlantıyı bozmaktadır (Jamil vd., 2011). Bitkileri etkileyen diğer abiyotik stresler, asit yağmurları sonucu ozon (O_3), karbon dioksit (CO_2), kükürt oksit (SO_2) ve azot oksit (NO_2) gibi sentezler toprak kirlenitçileri olarak sınıflandırılabilir (Georgieva ve Vasileva, 2023) (Şekil 1). Diğer yandan SO_2 düşük dozlarda bitkiye eksojen uygulandığında zararsızdır hatta bir sinyal molekülü olarak hareket ederek tohum çimlenmesinde, stomaların açılıp kapanmasında görev alır (Li vd., 2022). Benzer şekilde, düşük dozda NO_2 toksik değildir ve bitki büyümesi ve gelişmesi, hastalıklara karşı dayanıklılık sağlar (Garces vd., 2001). Diğer yandan ağır metallerin (Cd (kadmiyum), Cr (krom), Pb (kurşun), Al (alüminyum), Hg (cıva) gibi) endüstriyel faaliyetler, insan eliyle yapılan atıklar, zirai ilaçlama ile toprağa karışarak abiyotik strese neden olmaktadır.

Abiyotik stres faktörleri bitkilerde birçok biyokimyasal ve fizyolojik süreçleri değiştirerek ve bitkiler üzerinde genetik ve moleküler değişikliklere neden olarak bitki

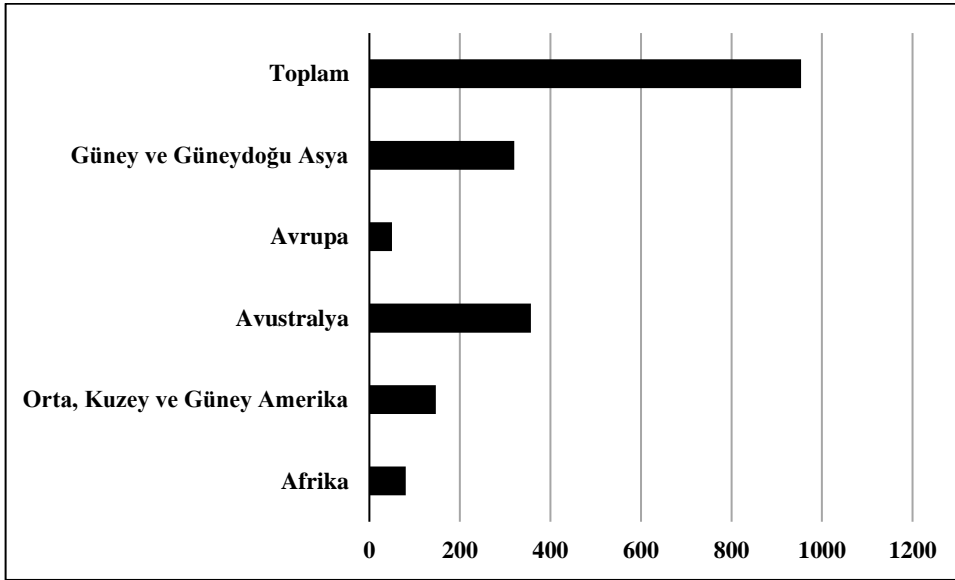
büyümesi ve gelişimini negatif yönlü etkiler. Tuz stresinin de dahil olduğu diğer tüm abiyotik stres faktörleri genellikle bitki DNA'sına ve hücre düzeyinde moleküler yapılara zarar vererek oksidatif strese yol açar (Chaudhry ve Sidhu, 2022). Bunun bir sonucu olarak giderek artan insan nüfusu ve küresel iklim problemleri ile birleşerek insan beslenmesinde zorluklar meydana getirmiştir. Özellikle bu çevresel stresler tarım alanlarının kullanımını azalttığı için insanlar beslenme problemleri yaşamaktadır. Araştırma verilerine göre günümüzde ve gelecekte artan sıcaklar artan kuraklığın bir nedeni olup tarım arazilerinin tuzlanmasına da neden olacağı ve ciddi sorunlar yaratacağı bildirilmiştir (Türkan ve Demiral, 2009).

1.2. Tuz Stresi

Toprak tuzluluğu küresel iklim değişikliğinin artan etkileri nedeniyle yıkıcı bir çevresel stres haline gelmiştir. Toprakta meydana gelen tuz stresi genel olarak primer ve sekonder tuzluluk olarak ikiye ayrılmaktadır. İlk olarak akarsuların neden olduğu akıntı ve buna bağlı biriken ana kayaların çözünmesi, devasa okyanuslar ve küresel iklimin neden olduğu tuzluluklar primer tuzluluk olarak sınıflandırılır (Munns ve Tester, 2008). Sekonder tuzluluk ise tarımsal alanlarda aşırı sulama kaynaklı topraktaki birçok tuzlara sahip olan yer altı sularının seviyesindeki artış nedeniyle toprak yüzeyine kadar yükselmesi, meraların fazla otlatılması ile bitki örtüsünün zayıflaması, bir bölgenin doğal bitki örtüsü yok edilerek tarım arazilerine açılması ile oluşan tuzlanmaları ifade edebiliriz (Pessarakli ve Szabolcs, 1999). Özellikle tuz konsantrasyonunun fazla olduğu ($EC > 4 \text{ dSm}^{-1}$ (desi-Siemens/metre)) toprakta, genellikle Na^+ (sodyum), K^+ (potasyum), Ca^{+2} (kalsiyum) ve Mg^{+2} (magnezyum) iyonlarının birikmesi ve sekonder tuzluluğun etkisi ile üretim ve verimde ciddi kayıplara neden olmaktadır (Corwin, 2021).

Dünyada tarım yapılan arazilerinin yaklaşık %20'si ve sulama yapılan bölgelerin ise yaklaşık %33'ü tuzdan etkilenmektedir (Jamil vd., 2011). Yeraltı sularının yüzeye çıkması ve kalitesiz sulamanın yanı sıra tarım arazilerini bilinçsizce sulamanın yapılmasına ek olarak Dünyada giderek artan küresel iklim değişikliğinin de etkisiyle tarım arazilerinin tuzlanmasını kaçınılmaz hale getirmektedir. Dünya yüzeyinde tuzdan etkilenen toprak arazilerinin yaklaşık 954 milyon ha (hektar) olduğu bildirilmiştir. Buna göre Afrika'da 80 milyon ha, Orta, Kuzey ve Güney Amerika'da 147 milyon ha, Avustralya'da 357 milyon ha,

Avrupa’da 50 milyon ha ve Güney ve Güneydoğu Asya’da ise 320 milyon ha tuzluluktan etkilenmektedir (Panhwar vd., 2019) (Şekil 2). FAO, dünyadaki yaklaşık 50 milyon ha alanda sulanan toprakların yarısından fazlasının tuz stresinden etkilendiğini ön görmektedir (FAO, 2018).



Şekil 2. Dünyadaki toprak tuzluluğundan etkilenen ülkeler (Panhwar vd., 2019’dan değiştirilerek).

Toprak tuzluğunun artması öncelikle kurak bölgelerde sürdürülebilir tarımı kısıtlayan en önemli problemlerden biridir (El Sabagh vd., 2019). Toprak içeriğindeki yüksek tuz konsantrasyonunun bir sonucu olarak ozmotik basınç artar ve bu da bitkinin su almasını engelleyerek bitkinin büyüme ve gelişimi için gerekli olan besinlerin emilimini azaltır (Tester ve Davenport, 2003). Ayrıca topraktaki çözünebilir tuzları, kökleri vasıtasıyla bünyelerine aldıklarında iyon toksisitesi yaratarak bitkide beslenme sorunlarına yol açmaktadırlar. Ayrıca kökleriyle alınan tuzlar, bitkilerin beslenme kaynaklı metabolizmalarını olumsuz yönde etkileyerek bitkide negatif etki yaratırlar. Diğer taraftan toprakta var olan tuz iyonları çevresel faktörlerinde etkisiyle de yoğunlukları artarken bitki için optimum olan koşul bozulmakta ve büyümeyi kısıtlamaktadır (Assaha vd., 2017). Toprak tuzluluğunun artması bitkilerin topraktan su emilimini kısıtlar/engeller ve bitkide fizyolojik kuraklık meydana getirir. Böylece fizyolojik kuraklık bitki için var olan toprak su

ilişkisi istenilen seviyede olsa da bitki tarafından su ve besin ilişkileri negatif şekilde etkilenmektedir.

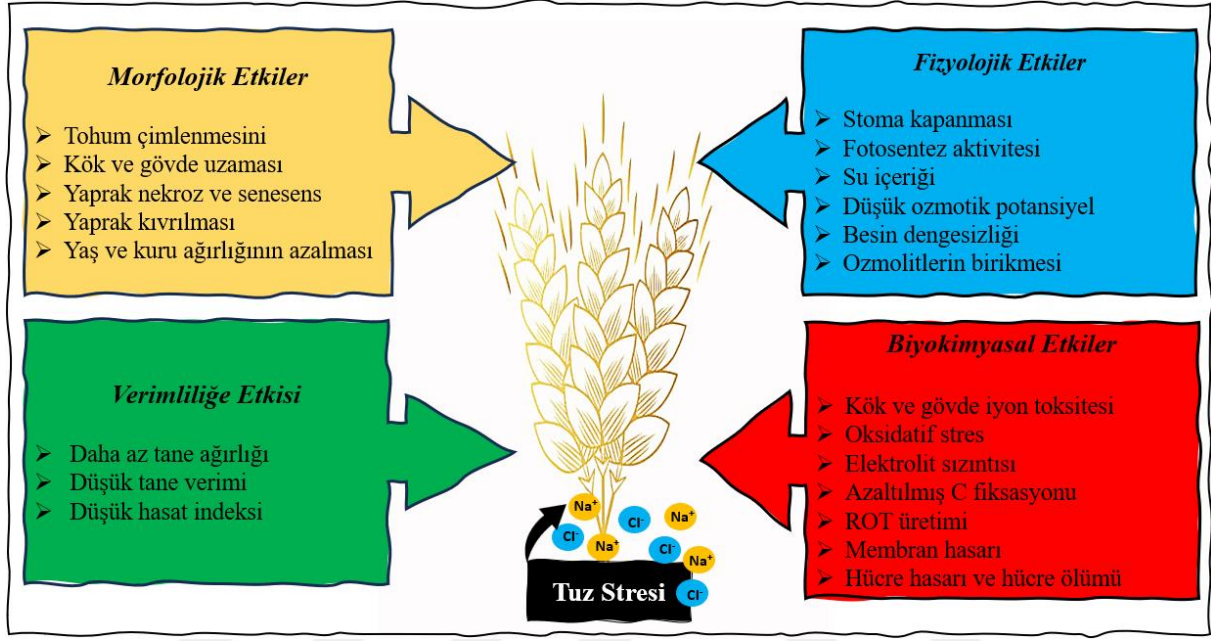
1.3. Bitkilerde Tuz Stresinin Etkileri

Topraktaki tuz konsantrasyonu arttıkça erken evrede tohum çimlenmesi ile fide ve kök gelişimi olumsuz etkilenir ve böylece tarımsal üretkenlik sınırlanır (Munns ve Tester, 2008). Tuz stresine neden olan iyonların zamanla toprakta ve bitki dokularında birikmesi bitki büyümesinde engelleyici etkilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bitkiler tuz stresine karşı türler arası farklı cevaplar gösterirken aynı tür içinde dahi tuza olan tepkiler farklı olabilmektedir. Tuz stresine verilen cevaba göre bitkiler halofitler (yüksek tuz konsantrasyonu altında yaşayabilen bitki, tuza toleranslı bitki) ve glikofitler (yüksek tuz konsantrasyonu altında yaşayamayan, tuza duyarlı bitkiler) olarak ikiye ayrılmaktadır (Gupta ve Huang, 2014). Tarımsal ürün yetiştirmede çoğunlukla glikofit bitkilerin kullanılıyor olması tuz stresi nedeniyle tarımsal verimliliğin düşmesinin temel nedenlerinden biridir.

Tuzluluk bitkiler üzerindeki zararlı etkisini ozmotik ve iyonik etki mekanizmalarıyla gösterir. Bitkilerde ilk olarak görülen etki kök bölgesindeki tuz iyonlarının toksik düzeye gelmesiyle kendini göstermektedir (Çulha ve Çakırlar, 2011). Ozmotik stres bitkide su ilişkilerini bozarak besinlerin emilimini, tohum çimlenmesini, yaprak gelişimini, dallanmayı, fotosentez hızını, hücre büyümesini negatif etkileyerek bitki gelişimini baskılamaktadır (Munns ve Tester, 2008). Tuz iyonlarının toksik düzeye gelmesi önce yaprakların dökülmesine, genç yapraklarda toksinlerin birikimine ve erken yaşlanmaya neden olmaktadır. Ayrıca fotosentezin işleyişinde etki ederek büyümede gerilemeye neden olmaktadır (Munns, 2002). Tuz stresinin toksik düzeyinin ilerleyen evresinde yaprak alanlarının yanı sıra yaş ve kuru ağırlıkta azalma olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2020).

Topraktaki tuz konsantrasyonu daha ileri seviyeye ulaştığında ise ikinci etki olarak bitkide toksik iyonların sentezinin artması DNA'ya ve hücre zarının işlevlerine zarar vererek ROT'ların artması sonucu bitkide oksidatif strese meydana gelir ve fotosentezin inhibisyonu sonucu bitkide iyonik toksisiteye neden olur (Tavakkoli vd., 2011). Toprak tuz konsantrasyonunun en yıkıcı etkilerinden aktif oksijen türlerinin miktarının artmasıyla, lipid peroksidasyonunun artması ve hücre membranından elektrolit sızıntısının artmasına neden

olması da oksidatif strese neden olmaktadır (Ahmad vd., 2018). Tuzluluğun tarım ürünlerine morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal etkileri ile ürün verimine etkileri Şekil 3'te gösterilmiştir (Ullah vd., 2021).



Şekil 3. Tuz stresinin bitkiler üzerindeki morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve verimliliğine etkileri (Ullah vd., 2021'den değiştirilerek).

1.3.1. Tuz Stresinin Fizyolojik Etkileri Bitki Büyümesi ve Gelişimine Etkisi

Toprakta artan tuz stresi zamanla yaprak dokusundaki NaCl miktarında artışa neden olarak başlangıçta düşük ozmotik strese ve bitki su ilişkisinde olumsuzluğa neden olmaktadır. Tuzlu topraklarda gelişen glükofit bitkilerde öncelikle kök suyu alamaz, su iletimi bozulur ve yaprak dokusunda su stresine neden olarak mevcut suyun köklerden yapraklara taşınmasını azaltır (Gunn vd., 2020).

Bitkilerin tuza karşı olan duyarlılıkları yaşam süreleri boyunca değişiklik gösterebilir, ancak tohum aşamasından fide aşamasına kadar geçen süreç en kritik dönemdir. Bu süreç aslında direkt ürün verimi ve kalitesine etki etmektedir. Bu yüzden bir bitkinin çimlenme aşamasında, yaşamsal faaliyetlerine başlayabilmesi için koşulların optimum olması

gerekmektedir. Ancak bu optimum koşullar bozulduğunda toprak içerisindeki tuz iyonlarının toksik düzeye gelmesi genellikle tohumların alması gereken suyun emilimini, tohum embriyosunda protein sentezini ve enerji üretimini engelleyerek çimlenmeyi ya geciktirir ya da hiç çimlenme olmaz (Alkharabsheh vd., 2021). Arpa tohumları tuz stresine hassas olarak bilindiklerinden 40-120 mM NaCl tuz stresi ile karşılaştıklarında, çimlenme %20-40 azalırken çimlenmiş tohumun ise 200 mM NaCl'de kök gövde uzunluğu ve kuru ağırlıklar azalmaktadır (Uçarlı, 2016).

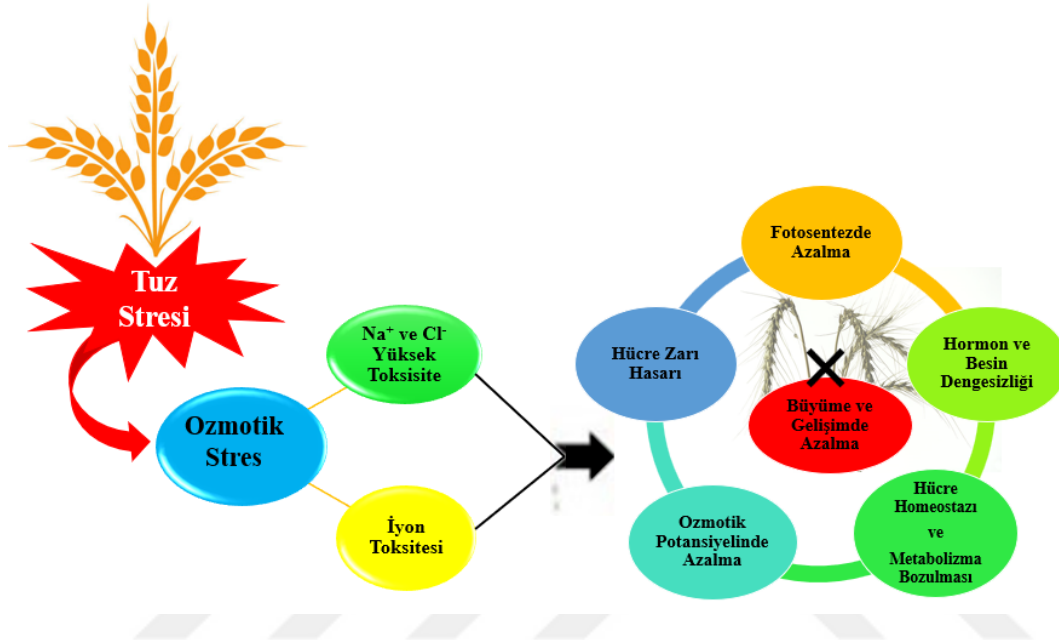
Bitkininin kök bölgesinde artan tuz konsantrasyonu, toprak-bitki arasındaki su ilişkisini bozarak besin emilimini engelleyerek, bitki büyümesini ve gelişimini morfolojik olarak (stomaların kapanması, terlemenin azaltılması, yapraklarda kıvrılma, ilerleyen safhada nekroz ve senesens) etkilemektedir (Şekil 3). Ayrıca, artan tuzluluk epidermis, palizat hücreleri ve mezofil hücrelerinde değişiklik olduğu bildirilmiştir (Parida vd., 2004). Artan tuz stresi ile stomaların kapanması direk olarak fotosentetik dokulara ciddi zarar (grana zar yapısında yığılma, tillakoidlerin büzülmesi-parçalanması ve kloroplasttaki pigmentlerin parçalanması) vermektedir (Ashraf, 2004). Ek olarak bitkinin fizyolojik yanıtı olan stoma kapanması sonucu fotosentez aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak CO₂ fiksasyonu azalmaktadır. Fotosentez ve solunum aktivitelerinin gerçekleştiği organellerdeki morfo-fizyolojik değişiklikler sonucu bitkideki fotosentetik elektron taşıma sistemi ile Calvin döngüsü kaynaklı net fotosentezin azalmasıyla, başta ribuloz-1,5-bisfosfat karboksilaz/oksijenaz (Rubisko) gibi birçok enzimin aktivitesini ve protein yapılarını bozmaktadır (Gunn vd., 2020).

1.3.2. Tuz Stresinin Biyokimyasal Etkileri

Hüresel Düzeyde Ozmotik Stres ve İyon Toksisitesi

Kök bölgesinde biriken tuzlar topraktaki su potansiyelini azaltır ve bitki su alımını gerçekleştirmez. Buna ek olarak, yapraklarda Na⁺'un toksik seviyedeki birikimi sonucu bitki büyümesi azalır (Munns ve Tester, 2008). Toprakta azalan su potansiyeli bitkide turgor basıncını azaltarak stomaların kapanmasına ve fotosentetik aktivitenin azalmasıyla bitkide ozmotik strese neden olmaktadır. Artık bitkinin topraktan emilimi gerçekleştireceği su miktarı azaldığı için, hüresel büyümesi geriler. Hücredeki bu gerileme iyon stresini meydana getirerek, ortamda artan Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının K⁺, Ca⁺², NO⁻³ ve Mg⁺² gibi bitki

yaşamsal faaliyetlerinde elzem olan bu katyonlarla yarışarak besin alımı ve/veya beslenme dengesizliği meydana getirir (Gunn vd., 2020). Artan tuz stresiyle ozmotik şoka giren bitki, ilk olarak hücredeki iyon toksisitesi nedeniyle zar geçirgenliğinin, bağıl su içeriğinin, yaprak su potansiyelinin, transpirasyonunun ve fotosentez hızının azalmasına neden olmaktadır (Şekil 4).



Şekil 4. Bitki hücrelerinde erken evrede gerçekleşen ozmotik ve iyon toksisitesi.

Bitkinin sağlıklı şekilde büyüme, gelişimi, turgor potansiyeli ve hücre metabolizma için gerekli olan besin elementlerinden K^+ ; ozmotik dengenin sağlanmasında, enzimlerin aktivasyonunda, protein sentezinde ve stomaların açılıp-kapanmasında görev almaktadır. Toprakta tuz stresi arttıkça kökler tarafından Na^+ 'un hücre sitoplazmasına girişi artarken, K^+ 'un hücreye girişini engellemektedir. Bunun sonucunda hücre içindeki Na^+/K^+ dengesi Na^+ lehine bozulmaktadır (Tester ve Davenport, 2003). Diğer yandan tuzlu toprakta bitki hücresine Ca^{+2} iyonu alımını da engellenir ve Na^+ , bu defa zarda bulunan Ca^{+2} ile yer değiştirerek Na^+/Ca^{+2} dengesini negatif etkileyerek hücrenin fizyolojik ve biyokimyasal olarak metabolizmasına zarar verir (Munns ve Tester, 2008). Hücresel düzeyde ozmotik stres sonucu oluşan iyon toksisitesi, sitoplazmadaki metabolik süreçlerde değişikliklere neden olabilir ve fotosentez üzerinde zararlı etkiler gösterebilir (Gunn vd., 2020).

Organel Düzeyde Fotosentez ve Solunuma Etkisi

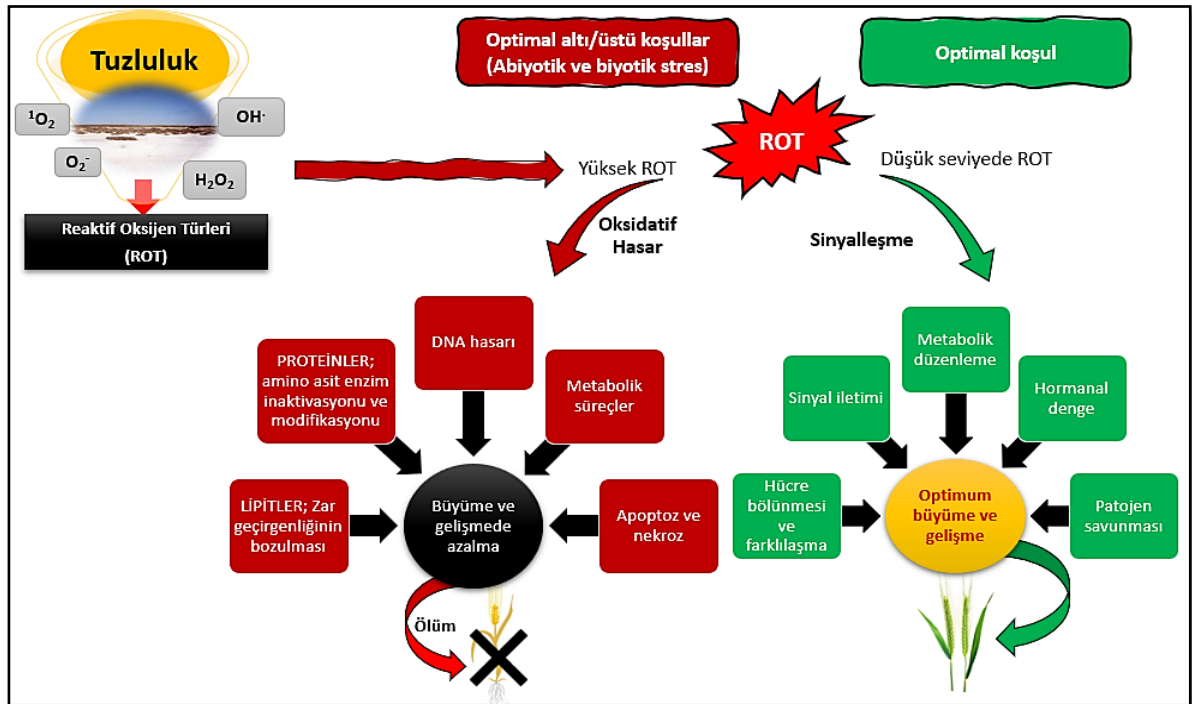
Bitkiler fotosentez ile ışık enerjisini NADPH (nikotinamid adenin dinükleotit fosfat), NADH (nikotinamid adenin dinükleotit) ve ATP (adenozin trifosfat) gibi moleküller ile kimyasal enerjiye dönüştürmekte ve şeker üretmek için CO₂ fiksasyonu ile besin elementlerini oluşturarak büyüme ve gelişimini tamamlamaktadır (Bowyer ve Leegood, 1997). Fotosentez, bitki hücrelerinin kloroplastında oluşan, yaşamsal faaliyetlerine devam edebilmesi için önemli metabolik süreçleri takip eden bir sistemdir. Ancak tuz stresinin artması ve bitkide oluşan ozmotik stres nedeniyle stomaların kapanması ile bitkilerde fotosentez aktivitesi azalmaktadır (Meloni vd., 2003). Tuz stresinin ilerleyen safhalarında ozmotik ve iyon toksisitesi kloroplastta toksik iyonların birikimine neden olarak kloroplasttaki tillakoid membranlara zarar vermektedir (Yıldız vd., 2010). Klorofil pigment miktarındaki azalma, fotosentez mekanizmasında meydana gelen metabolik ve biyokimyasal süreç ile ilişkilidir. Bu süreçte hücredeki fazla Na⁺ iyonunun toksisitesi fotosistem II (PSII)'nin reaksiyon merkezindeki D1 proteininin bozarak hasar oluşturmaktadır (Tavakkoli vd., 2011). Ayrıca karanlık reaksiyonlarda rubisko üreten protein yapılarının bozulmasını tetikleyerek enzim aktivitelerini azaltmaktadır (Chaves vd., 2009). Ayrıca, artan tuz stresinin fotosistemlerin ışık toplama sistemlerinde (PSI ve PSII) bulunan pigmentlerin miktarını azalttığı bildirilmiştir (Parida ve Das, 2005). Artan tuz stresinin D1 proteininin tamir mekanizmalarına da zarar vermesiyle fotosentez oranı/etkinliğinin azaldığı ve bunun bitkide fotoinhibisyona neden olduğu bilinmektedir (Lu vd., 2002). Fotosistemlerde elektron taşınımı fotoinhibisyonla engellenir, bu ise bir ROT çeşidi olan süperoksit radikalinin PS II'de O₂'den sentezlenmesiyle sonuçlanır (Pandey vd., 2009). Ek olarak PSI'in aşırı indirgenmesi tekli oksijenin oluşmasıyla sonuçlanacak triplet formun ortaya çıkmasını sağlar (Apel ve Hirt, 2004). Ortamdaki NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak PSII'nin tamiri mekanizmasında yer alan D1 proteininin *de novo* sentezini sağlayan transkripsiyon ve translasyon aşamaları inhibe olabilmektedir (Allakhverdiev vd., 2002). Tuz stresine bağlı olarak stomaların kapanması ve böylece CO₂ miktarının sınırlanması ile dokudaki O₂ PS I tarafından indirgenir. Mehler reaksiyonunu başlatan bu süreçte Calvin döngüsünün enzimlerinin inaktivasyonu olabilir ve NADPH indirgenemeyebilir. Bu bağlamda, PSI'deki ferredoksin (Fd) ortamda indirgeyecek NADP⁺ bulamaz. Böylece elektronunu Fd NADP redüktaz (FNR) yerine oksijene aktarır ve H₂O₂'e dönüştürülür (Asada, 1999; Apel ve Hirt, 2004). Calvin döngüsünün karboksilasyon evresinde CO₂'in katılmasını sağlayan enzim

Rubisko, tuz stresi altındaki bitkilerde stomaların kapanması sonucu CO₂ konsantrasyonunu azalması ve artan O₂ konsantrasyonuna bağlı olarak rubiskoya bağlanır ve enzimin karboksilaz aktivitesi yerine oksijenaz aktivitesinin etkinleşmesine neden olur (Allahverdiev vd., 2002). Ayrıca, tuz stresi kloroplast stromasında pH'ının azalmasına da sebep olabilir ve bu durum karbon reaksiyonlarında görev alan enzimlerin aktivitelerini olumsuz etkiler (Apel ve Hirt, 2004). Böylece tuzluluk stresi, kloroplast ve mitokondri yapısını değiştirerek, fotosentetik aktivitenin azalmasını ve bitkide büyüme ve gelişimde geri dönüşü olmayan hasarlara neden olur.

Bitkilerde ROT Oluşumu ve Oksidatif Stres

Bitkiler dışsal streslere maruz kaldıklarında farklı biyokimyasal tepkiler vermektedir. Özellikle dış çevrede tuz konsantrasyonunun artması bitkide ROT konsantrasyonunu arttırarak moleküler metabolizmaya zarar verir ve bitkiyi oksidatif strese sokmaktadır (Ashraf, 2009). Aslında moleküler oksijen (O₂) bitkilerde kararlı ve zararsızdır ve var olan ROT'lar hücrede sinyal görevi görerek bitkinin optimum büyüme ve gelişimine katkı sağlamaktadır. Ancak çevresel stres faktörleri arttığında O₂ indirgenme reaksiyonlarında zararlı hale gelebilmektedir (Apel ve Hirt, 2004). Diğer yandan, ROT abiyotik ve/veya biyotik stres ile karşılaşmadığı sürece hücrede sinyal görevi alırken artan tuz konsantrasyonu ozmotik stres kaynaklı bitkide oluşan iyon toksisitesi, singlet oksijen (¹O₂), süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH⁻) gibi zararlı ROT'ların üretimini arttırır (Apel ve Hirt, 2004). Bu yüzden bu zararlı ROT'lar kloroplast ve mitokondri gibi bitkinin enerji kaynağı olan organellerinde oksidatif stresi meydana getirerek hücrede proteinlere, lipitlere, karbonhidratlara ve DNA'ya saldırarak metabolik süreçleri bozar (Şekil 5) (Noctor ve Foyer, 1998). Bitkide artık büyüme ve gelişimde azalma hatta ileriki safhada ölüm ile sonuçlanmaktadır. Özellikle bitkilerin kloroplast organelinde PSI ve PSII sistemlerinin, elektron taşıma zinciri ROT'ların üretiminin ana kaynağıdır (Asada, 1999). Kloroplastın tillakoid membranına bağlı PSI'de bakır/çinko süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) ve/veya demir SOD (Fe-SOD), süperoksit radikallerini H₂O₂'ye dönüştürür ve APX devreye girerek H₂O₂'yi suya dönüştürür (Foyer ve Noctor, 2000). Ek olarak monodehidroaskorbat (MDA) ile tekrar askorbat üretilir. Diğer yandan mitokondride MnSOD (Mangan SOD) ile solunum aktivitesinde kompleks yapılar (I ve II) tarafından

oksijen suya indirgenir (Foyer ve Noctor, 2005). Peroksizomlarda ise süperoksit molekülü ksantin oksidazın matriksinde ve zarlarda üretilmektedir (Sandalio vd., 1987). Peroksizomlar bitki hücrelerinde rubiskonun neden olduğu fotorespirasyondan sorumludur (Dat vd., 2000). Bu nedenle peroksizomlarda monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), peroksizom zarının matriks tarafında nikotinamid adenin dinükleotit (NAD)'e sonra da MDHA'ya dönüştürülerek H₂O₂ peroksizom zarındaki APX ile süpürülür (Mittler vd., 2004).



Şekil 5. ROS'lerin bitki üzerindeki etkileri (Teker Yıldız ve Acar 2023'ten değiştirilerek).

1.4. Bitkilerde Tuz Tolerans Mekanizmaları

Bitkiler karşılaştıkları tuzlulukla başa çıkmak için çeşitli tolerans mekanizmaları ile topraktaki toksik tuzun bitki dokularına kadar geçen o metabolik süreçlerinde bir nevi sakınma gösterdikleri bilinmektedir (Levitt, 1980). Bunlar arasında büyüme ve gelişim için en gerekli olan fizyolojik, biyokimyasal (iyonların ayrılması, ozmolitlerin sentezi, antioksidan enzim sistemi ile ROS'lerin süpürülmesi gibi) ve moleküler (enzim ve proteinleri kodlayan genlerin regülasyonu) adaptasyonlar yer almaktadır (Parida ve Das, 2005). Bu adaptasyonlar temelinde, bitkiye toksik tuz iyonlarının girişini azaltanlar ve

sitoplazma içindeki toksik seviyedeki iyonları en az indirgeyen halofitler bu konuda çok başarılı evrimleşmişlerdir. Bu yüzden tuzlu ortamda yaşasalar dahi tuzu bünyelerinden iyi şekilde dışlarlar, hatta kaçınılmaz olarak içeri giren tuz iyonlarını da etkili bir şekilde bölümlendirebilirler. Bu durum onların tuzlu toprakta sağlıklı şekilde büyüme ve gelişimlerini sürdürebilmelerinin bir kanıtıdır. Ancak bunun aksine glikofitler de sadece bazı türler tuzu dışlayabilir ama alınan tuzu halofitler kadar etkili bir şekilde bölümlendirme yetenekleri yoktur (Munns, 2002).

1.4.1. Fizyolojik Adaptasyonlar

Tuz stresinin olumsuz etkilerinden sakınan bitkiler, buna rağmen tuzlu habitatlarda gelişebilirler ve bunu özel tolerans mekanizmalarıyla başarırlar. Bu mekanizmalardan birisi tuz stresi altındaki köklerin morfolojik ve fizyolojik değişikliğe uğrayarak kök dallanmasını arttırmaları ve tuzluluğu azaltmak için köklerini toprağın derinlerine doğru ilerletmeleridir. Ayrıca, tuzluluğun toksik etkisinden korunmak için köklerde elektriksel iletkenlik artırılarak iyonların tutulmasını sağlar ve toksik iyonların birikmesi azaltılır (El Ghazali, 2020). Özellikle bazı bitkiler tuz stresi ile karşılaştıklarında kök sistemlerindeki kaspari şeridi sayesinde bazı toksik iyonları geçirmezler hatta onları uzaklaştırırlar (Botella vd., 2005).

Toprak da biriken tuzlar bitki için toksik olmaya başladığında ya iyonları kök bölgesinden geçirmez ya da çok az miktarda kök, gövde ve yaprak ile çiçek saplarına ulaşması sonucu gelişen yapraklara ve genç meyvelere ulaşan tuz miktarı azalır (Larcher, 1995). Genellikle bitkiler tuz iyonlarının emilimini en aza indirir ya da emilen tuz iyonlarını vakuollerinde biriktirerek tuzun toksik etkisinden kendilerini sakınırlar. Böylece, köklerinden ksileme Na^+ geçişini azaltırken ksilemden köke Na^+ girişini arttıırırlar (Tester ve Davenport, 2003). Bitkiler tuz stresine karşı, tuz salgı tüyleri ve tuz bezleri gibi özelleşmiş yapılar ile tuzu bünyelerinden uzaklaştıracak bazı adaptasyon mekanizmalarına sahiptirler (Munns ve Tester, 2008). Bunlardan tuz bezleri dış ortamdan alınan tuzu dışarıya atarken, tuz tüyleri ise fazla tuzu vakuollerinde biriktirirler (Breckle, 2002).

Tuz stresinden sakınma ya da tuzu uzaklaştırma için geliştirdikleri diğer adaptasyon ise dokularında tuz konsantrasyonun azaltılmasıdır (Glenn vd., 1999). Örnek olarak halofit bitkilerin morfolojik ve anatomik değişimler gerçekleştirerek depo parankimasını su hacmini

arttırlar böylece hücrelerin hacim ve yaprak kalınlığının artması sonucu kendilerini tuz stresinden sakınırlar (Dajic, 2006). Ek olarak fotosentetik karbon asimilasyon yollarına göre C3 yolu, C4 yolu ve crassulacean asit metabolizması (CAM) ile tuzluluğa karşı oluşturulan bir diğer fizyolojik adaptasyondur. Özellikle C4 ve CAM bitkileri, C3 bitkilerine oranla suyu bünyelerinde daha iyi kullanır ve böylece tuza karşı adaptasyonları daha güçlüdür (Cushman vd., 1989).

1.4.2. Biyokimyasal Adaptasyonlar

Ozmoprotektanlar / Uyumlu Çözünen Maddelerin Birikimi

Ozmotik regülasyon tuz stresi altındaki bitkinin büyüme ve verimi için yaşamsaldır. Bitkiler, bu ozmotik düzenlemeyi ozmolitler ve/veya ozmoprotektanlar (uyumlu çözünen maddeler) olarak adlandırılan şeker vb. molekülleri bünyelerinde biriktirerek sağlarlar (Arif vd., 2020). Düşük molekül ağırlığına sahip olan bu şekerler, organik asitler, polioller, amino asitler, amidler, amino asitler ve çeşitli kuaterner amonyum bileşiklerinin uyumlu çözünen maddeler olarak hareket ettiği bilinmektedir. Diğer yandan ozmoprotektanlar tuz stresinin neden olduğu ROT temizlenmesinde de etkili oldukları bildirilmiştir (Smirnoff ve Cumbes, 1989). Prolin serbest bir amino asittir ve ozmoprotektan olarak ROT'ların temizlenmesinde ve hücre homeostazının korunmasında görev alan bitkiler için önemli bir sinyal molekülüdür (Arif vd., 2020). Ek olarak prolinin tuz stresi altındaki bitkilerde su alımını ve antioksidan mekanizmaya katkı sağladığı bildirilmiştir (Zhang ve Dai, 2019). Bir diğer ozmoprotektan olan glisin betain ise, tuz stresini azaltmada görev alan ve tuzluluğa yol açan iyonların toksik etkilerinin azalmasını sağlar (Singh vd., 2015). Sorbitol ve mannitol gibi şeker alkolleri ise hücrede ozmotik ayarlamayı düzenleyerek (ROT süpürülmesi, hücre turgoru) tuzluluk toleransına katkı sağlamaktadırlar (Singh vd., 2015). Bu nedenle bitkiler tuz stresi altında, antioksidan savunma sistemlerini ve iyon homeostazlarını korumak için prolin, glisin betain, şekerler ve şeker alkolleri gibi çok sayıda ozmoprotektan sentezleyerek bitkilerde tuz stresine biyokimyasal bir mekanizma ile dayanıklılık sağlarlar (Zhang ve Dai, 2019).

İyon Toksisitesinden Korunmak için İyon Seçici Absorpsiyon ve İyon Bölümlendirme

Tuzluluk, topraktan besin ve mineral alımını engelleyerek bitkinin büyümesini, kök sistemlerinde biyokimyasal değişiklikler yaratır (Sirohi vd., 2016). Tuzluluk bitkideki besin alımını engeller ve yüksek tuz konsantrasyonu Fe, Ca, K, Zn, B ve Mg gibi katyonların topraktan alınımını engeller (Chrysargyris vd., 2019).

Bitkiler, tuz stresi kaynaklı iyon toksisitesinden korunmak için iyonları seçici olarak absorplar ve iyon bölümlendirmesiyle iyon homeostazını sağlar. Bitkiler, topraktan kök sistemleriyle sitozole ulaşan yüksek tuzları tolere edemezler, bu nedenle sitozolden uzaklaştırmak için vakuollerinde biriktirirler. Böylece bitkiler kök sistemleri ile sitoplazmaya giren iyonları hücre membranında bağlı bulunan Na^+/H^+ antiporter pompaları tarafından difüzyon veya iyon kanalı şeklindeki taşıyıcılarla (HKT (yüksek afiniteli K^+), LCT (düşük afiniteli katyon) ve NSCC (seçici olmayan katyon)) vakuollere taşınır (Şekil 5).

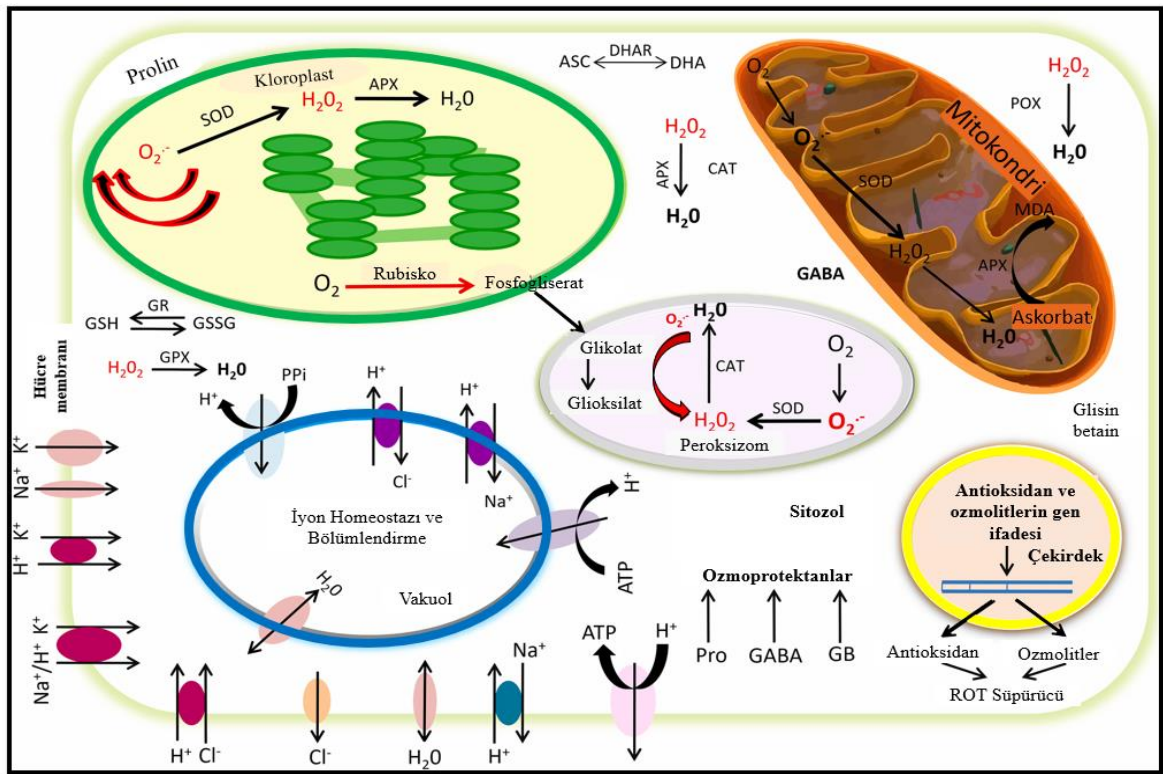
Tuza aşırı duyarlı genler (SOS) iyon toksisitesini azaltmada ve hücrel iyon dengesini sağlamada görev almaktadır (Shi vd., 2000). SOS1 geni bir plazma membranında bulunan Na^+/H^+ antiporter kodlamaktadır. Diğer SOS2 ve SOS3, Na^+ giriş çıkışını düzenleyen Ca^{+2} u aktifleştirerek tuz toleransı sağlanmış olur (Shi vd., 2000).

Bitkilerde tuz stresinin neden olduğu iyon toksisitesine karşı ABA yolu sinyal iletiminde çok önemli yere sahiptir. Toprakta artan tuz stresiyle bitkinin kök sistemleri iyon toksisitesine karşı ABA'yı artırır ve kökten yapraklara taşınarak stoma açıklığı ve tuz dayanıklılık genlerinin ifadesini düzenler. Böylece ilk olarak, Ca^{+2} bağımlı olan sinyal yolu ABA genlerinin ifadesini artırarak tuz toleransını gerçekleştirirler (Chen vd., 2020).

Oksidatif Stresin Korunmak için ROT'ların Antioksidan Enzim Sistemiyle Temizlenmesi

Strese tepki olarak üretilen ROT, hücre zarı, proteinler ve nükleik asitleri oluşturan lipitlerde özellikle moleküler mekanizmalarda oksidatif hasara yol açar. Bitkiler artan tuz konsantrasyonu karşı fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler düzeydeki etkilerden, ROT'ların antioksidan savunma sistemi ile temizleyerek tuzluluk stresine karşı bitki

biyokimyasal adaptasyonlarında önemli bir rol oynar (Ahanger vd., 2014). Bitkilerde ROT hücrelerden bir nevi uzaklaştırma ve/veya atmada görev alan antioksidan sistemleri, enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) ve glutatyon redüktaz (GR)) ve enzimatik olmayanlar (glutatyon (GSH), askorbat (AsA), karotenoidler ve tokoferol) olarak hücrenin biyokimyasal savunmasında görev almaktadır (Asada, 1999) (Şekil 6).



Şekil 6. Bitkilerin tuzluluk stresi altında biyokimyasal mekanizmalar ile ROT'ların süpürülmesi (Arif vd., 2020).

SOD (EC 1.15.1.1); süperoksit radikalini oksijen ve H_2O_2 'e dönüştüren enzimdir ve antioksidan savunma sisteminin ilk yolunu oluşturur (Şekil 6). Bitkiler artan süperoksit radikallerinin Mn-SOD (mitokondride), Fe-SOD (kloroplastta) ve Cu/Zn-SOD (sitozolda) izoenzimleri tarafından oluşumunu engellerler (Mittler, 2002).

POX (EC 1.11.1.7); bitkilere ait olan III peroksidaz sınıfı mevcuttur, hücre duvarında apoplastik ROT üretiminden sorumlu enzim ailesidir. H_2O_2 reaksiyonlarını katalizleyen

enzim sınıfıdır. Ayrıca bitki-patojen saldırısı ve abiyotik stres sınırlamalarına karşı sinyal olarak görev almaktadır (Jankü vd., 2019).

CAT (EC 1.11.1.6); buldukları yere ve işlevlerine göre 3 izoforma sahip enzimdir. Bunlardan Cat I, peroksizomlarda H₂O₂ uzaklaştırılmasında görev alır, Cat II iletim demetlerinde bulunur, Cat III ise tohum yapılarında, fidelerde lokalize olurken glioksizomlarda hidrojen peroksiti suya ve oksijene dönüştürürler (Dat, 2000).

APX (EC 1.11.1.11); bitki hücrelerinin hücre içi sıvılarında ve kloroplastlarında bulunan H₂O₂ uzaklaştırmada görev alan en önemli enzimdir (Jankü vd., 2019). Bu enzim bitkide H₂O₂ tarafından askorbatı yükseltgeyerek monodehidroaskorbat radikalini (MDA) oluştururlar. Hücrenin farklı yerlerinde özellikle, stroma (sAPX), tillakoid (tAPX), hücre içi sıvılar (cAPX) ve glioksizom (gmAPX) bölgelerinde biriken enzimlerdir (Campa, 1991).

GR (EC 1.8.1.7); NADPH'ı redüksiyona uğratarak, GSSG'yi GSH'a indirgeyen protein yapısındadır. Redüksiyona uğrayan glutatyon (GSH), MDHA ve DHA'dan askorbat indirgenir son olarak GSH'ye tekrar dönüştürülür (Asada, 1994). Bitkide peroksizomlar kloroplast, sitozol, endoplazmik retikulum, vakuol, mitokondride ROT süpürücüsü enzim olarak görev almaktadır (Noctor ve Foyer, 1998).

Askorbat (*L-Askorbik Asit*); hücrede özellikle sitozolde ve apoplast'ta bulunan askorbat ROT saldırılarına karşı ilk savunma yoludur (Barnes vd., 2002). APX enzimi aracılığıyla H₂O₂'i suya dönüştürerek hücreyi biyokimyasal olarak düzenler ve oksidatif strese karşı savunma sağlar.

Karotenoidler; kloroplastlarda lokalize olarak fotosentez sistemlerinde oksijen oluşumunu engelleyerek hücrede yardımcı pigment görevi olarak bitkiyi savunurlar.

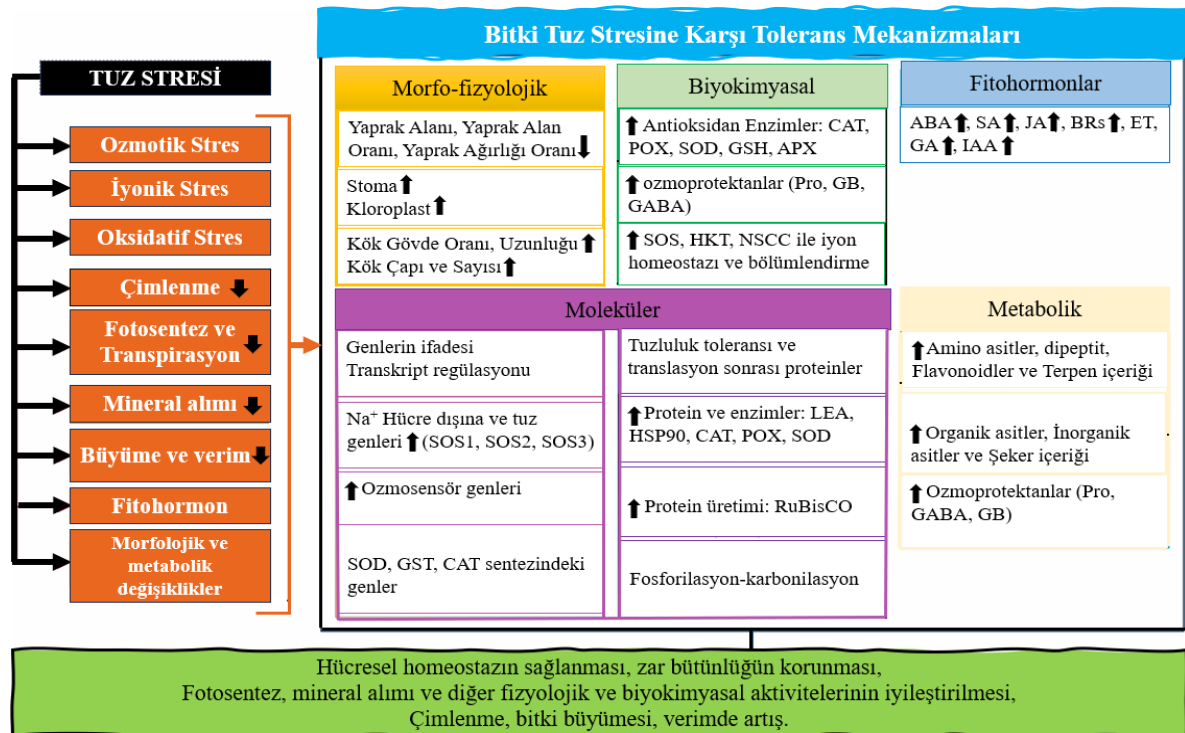
α -tokoferoller (*E vitamini*); bitkinin kloroplast organelinde fotosistemlerde meydana gelen oksidatif stresle başa çıkmak için O₂ ile reaksiyona girerek PSII sistemini korurlar (Ivanov, 2003).

1.4.3. Moleküler Adaptasyonlar

Tuz stresinin artmasıyla ilerleyen safhada bitki genlerin ifadesini arttırarak moleküler düzeyde kendisini savunmaya almaktadır. Bitki savunmasında görev alan moleküler adaptasyonlar bitkiyi koruma (efektör; iyon taşıyıcılar, düzenleyici enzimler, LEA

proteinleri, su kanal proteinleri, şaperonlar) ve bitki-sinyal ağı olarak genlerin düzenlenmesi (regülatör; protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri, fosfolipazlar) olarak iki şekilde sınıflandırılmaktadır (Arif vd., 2020).

Toprak tuzluluğu, sürdürülebilir tarım için yıkıcı etkiye sahip olmasının dışında aslında küresel bir gıda krizine sebep olan önemli bir strestir. Bitkiler tuzluluğa karşı fizyo-morfolojik, anatomik, biyokimyasal ve moleküler olarak tepki verir (Şekil 7). Tuzluluk, toprağın yaprak su potansiyelinde azalmaya neden olarak yaprak turgorunu azaltır ve ozmotik stres yaratır. Daha sonra tuzluluk iyonik stresi meydana getirerek hücre sitoplazmasındaki toksik iyonların konsantrasyonunu artırarak iyonik dengeyi bozar ve mineral alımını azaltır. Buna paralel şekilde ROT konsantrasyonunda artış ve hücre zarını ve organelleri parçalayarak lipid peroksidasyonunu artırır. İlerleyen safhada kloroplast organelini etkileyerek fotosentezi azaltarak klorofil gibi yardımcı pigmentlerinde içeriğini azaltır ve stomaları tuza duyarlı hale getirerek terlemeyi engeller. Tuzluluğa tolerans için bitki, ozmoprotektanlar'ın (Pro, GB, GABA ve PA) birikimini artırır, antioksidan enzimi (CAT, POX, SOD ve APX) teşvik eder ve ayrıca poliaminleri sentezler (Şekil 7). Bitkilerdeki tüm bu fizyo-morfolojik, anatomik, biyokimyasal ve moleküler adaptasyonlar, tuz stresine karşı toleransın sağlanmasına yardımcı olur (Şekil 7).



Şekil 7. Bitkiler tuz tolerans mekanizmalarındaki verdiği tepkilere genel bakış (Arif vd., 2020'den değiştirilerek).

Efektör Moleküller

Bitkide sağlıklı koşullarda LEA proteinleri, tohumda birikirken, artan tuz stresi ile vejetatif dokularda birikirler (Hundertmark ve Hinch, 2008). Böylece bitkide, suyun tutulması, iyon toksisitesinden hücreyi korumada ve zar yapısının savunmasında önemli bir göreve sahiptirler (Wise ve Tunnacliffe, 2004). Özellikle zar proteini olarak bilinen akuaporinler, hücre zarından suyun yağ tabakasından geçişini kolaylaştırırken, apoplastik ve simplastik yollardaki taşımada suyun iletiminde görev alarak bitkide hücresel düzeyde su dengesini sağlamaktadır (Maurel ve Chrispeels, 2001). Diğer yandan artan tuz stresiyle birlikte ısı şoku proteinleri (Hsp) bitkide moleküler düzeyde savunma hattını oluşturmaktadır (Gorovits ve Czosnek, 2008). Bu gruba ek olarak şaperonlar ise, proteinlerin katlanmasından, bağlanmasından, translokasyonundan ve tuz stresi kaynaklı hasarların düzeltilmesinde görev alan moleküler adaptasyondur (Hundertmark ve Hinch, 2008).

Regülatör Moleküller

Düzenleyici olarak görev alan protein kinazlar, sinyal iletim yolunda protein fosforilasyonunda görev alarak; MAP kinazları ve Ca^{+2} bağlı protein kinazları (CPDK) aktive ederek transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonu ile aktivasyonunu düzenler ve strese rol oynayacak belirli genlerin ifadelerini artırır (Apel ve Hirt, 2004). Diğer yandan bir diğer düzenleyici molekül olan transkripsiyon faktörleri (TF), tuz stresine tepkinin genlerini kodlar ve ifadesini düzenlerler. Ayrıca ABA-bağımlı ve ABA-bağımsız sinyal iletim yolunda TF' ler, patojen enfeksiyonuna yanıtta, bitkinin gelişiminde ve tuza toleransta rol oynayan bazı genlerin aktivasyonuna etki ederler (Shinozaki ve Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

1.5. Bitki Büyümesini Teşvik Edici Rizobakteriler (PGPR)

Gelecekte insan nüfusundaki artış giderek artan beslenme sorunu ile karşılaştığında insanoğlu mevcut gıda ihtiyaçlarını karşılamakta zorlanacaktır. Bu durum artan gıda talebi için tarım üretiminde verimliliğin artırılmasını, yeni tekniklerin geliştirilmesini ve bunların

uygulanması gerektirecektir. Günümüzde sürdürülebilir bir tarım için toprağa verilen kimyasallar patojenleri ve yabancı otları öldürerek tarımsal verimliğe katkı sağlarken çevreye ve bitki ekosistemine telafisi imkânsız şekilde zarar verilmektedir. Buna ek olarak, zirai ilaçların ekosistemde oluşturduğu zarar insanları da etkilemektedir. Bu yüzden tarımsal verimliliği sürdürülebilir bir yaşam için hem bitki hem de insanoğlunun sağlığı için bitki-bakteri ilişkileri gelecekte alternatif olarak kullanılma potansiyeline sahiptir. Ekosistem dostu sürdürülebilir tarım uygulamalarının yeniliklere ihtiyaç duyması nedeniyle bitki-bakteri ilişkilerinde rizobakterilerin biopriming (tohum kaplama) şeklindeki kullanılması hem bitki hem de insanlar için gelecekte çok kullanışlı bir alternatif olabilir. Biyopriming, bitkisel üretimde fizyolojik ve biyokimyasal gelişimi destekleyen inovatif bir yöntemdir (Chakraborti vd., 2022). Bu amaçla bitkinin kök çevresinde bulunan bitki için kullanışlı olan bakteriler genel olarak bitki gelişimini teşvik edici rizobakteriler (PGPR) olarak tanımlanırlar (Kleopffer ve Schroth, 1978). Bu nedenle, bitkiler için yararlı olan PGPR uygulamaları abiyotik ve biyotik streslere karşı büyüme ve gelişimlerine pozitif yönde katkı sağlayarak strese karşı tolerans mekanizmaları geliştirmektedir.

Topraklarda bakteri, mantar, aktinomiset, protozoa ve alg olmak üzere birçok mikroorganizmanın yaşam alanı bulunmaktadır. Bitkilerin kök bölgesinde özellikle *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Actinoplanes*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Erwinia*, *Enterobacter*, *Amorpho sporangium*, *Cellulomonas*, *Flavobacterium*, *Streptomyces* ve *Xanthomonas* gibi bakterilerin kolonize olduğu ve bunların PGPR özellikleri taşımalarından dolayı tarımsal verimi arttırdıkları ve bitkisel hastalıkları azalttıkları gösterilmiştir (Singh, 2018). Bakteriler bitkilerin büyüme ve gelişimini doğrudan etki ve/veya dolaylı etki mekanizmaları ile desteklerler. İlk olarak azot fiksasyonu, fosfat çözünürlüğü, fitohormon (oksin, gibberellin ve sitokinin gibi bitkisel hormonlar) üretimi, 1-aminosiklopropan 1-karboksilat (ACC) deaminaz aktivitesi yoluyla etilen sentezinin engellenmesi ile bakteriler çevreden gelen her türlü stres faktörünün etkisini azaltır. Bakteri ve bitki ilişkisinin ahenk içinde olması, inorganik fosforun çözülmesi ile mineral dengesinin sağlanması, siderofor üretimi yoluyla demir alımının artırılması ve kök geçirgenliğinin artırılması gibi mekanizmalar ile bitkiye büyümede düzenleyici olarak görev almaktadırlar (Agami vd., 2016). İkinci etkileri arasında ise ACC deaminaz üretimi, dolaylı olarak ekzopolisakkarit (EPS), biyofilm veya ozmoprotektanların üretimi, antioksidan enzimler ve uçucu organik bileşikler (VOC) üretilip bitki hormon seviyelerini düzenleme ve indüklenmiş sistemik direnç (ISR) ile biyotik strese karşı direnç sağlanması

sayılabilir (Glick, 2012). Tüm bu özellikler, bakterilerin tuzlu koşullar altında hayatta kalmasına ve bitki büyümesini teşvik etmesine yardımcı olur (Kumar vd., 2022). Bakterilerin doğrudan ve dolaylı etkileri ile bir yandan bitkilerde tarımsal verimlilik artarken diğer yandan hastalık etkenleri de engellenmektedir. Ayrıca PGPR'ler, bitkide fitohormonları yeniden düzenleyerek bitkide mineral beslenmeyi kolaylaştırdığı gibi bitkilerde sistemik direnci indükler (Vejan vd., 2016). PGPR ile tohumları kaplama ve/veya aşılama yöntemi, tarım ürünlerinde verimlilik/kaliteyi iyileştirmek için iyi bir seçenek olarak kabul edilmektedir. Diğer yandan, tarımsal üretimde PGPR teknolojisinin kullanılması, pestisit vb. maddelerin kullanımını azaltır. Böylece, çevreye dost sürdürülebilir tarımsal üretime olumlu katkıda bulunur (Teker Yıldız vd., 2023).

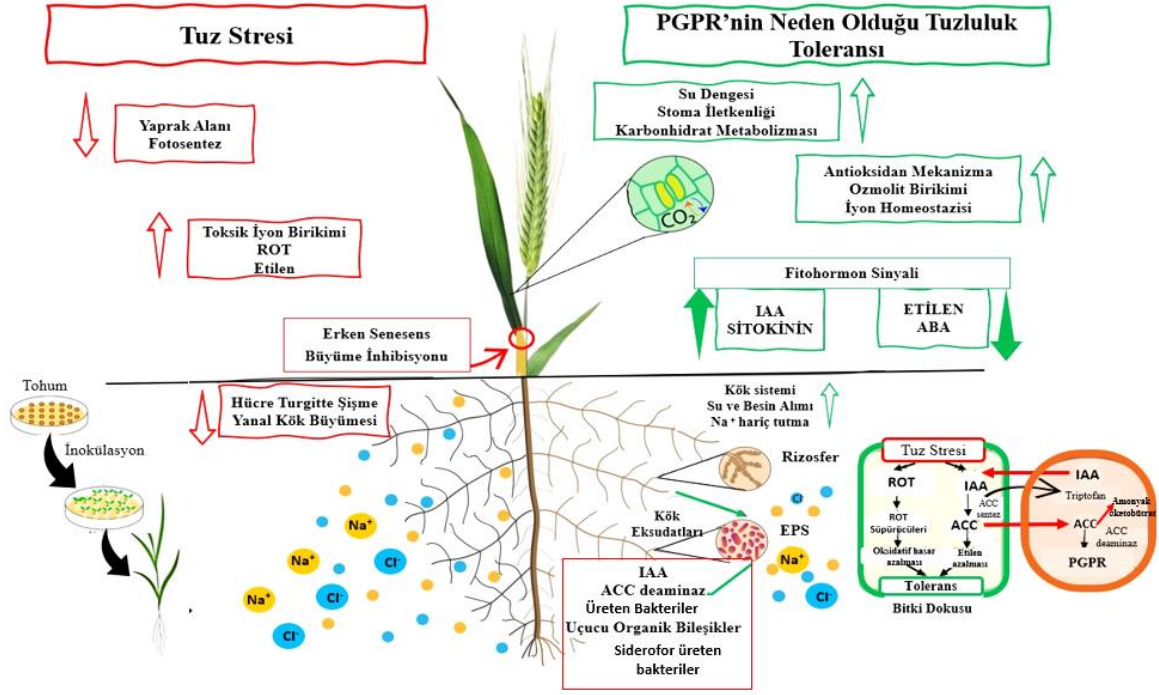
Bitkiler abiyotik stres faktörleri ile karşı karşıya kaldıklarında bakteri uygulamalarının bitki ile bakteri arasındaki etkileşimleri hangi mekanizmalar ile tetiklendiği hakkında hala kapsamlı şekilde belirlenmiş değildir. Ancak toprakta var olan birçok mikroorganizmanın, abiyotik stres faktörü esnasında bitkilerin strese uyum sağlamasına yardım ettiğine dair çok sayıda rapor mevcuttur (Morales-Cedeno vd., 2021). Bir tohumun çimlenme ile yaşamına başladığı anda toprakla teması geçmesi toprak bakterileri ile ilişki haline geçmesi demektir (Meena vd., 2017). Bu bitki-bakteri ilişkisi ile topraktan alınan besin maddesi, abiyotik stres toleransını artırırken bitki büyümesinin teşvik edildiği gösterilmiştir. Abiyotik strese karşı tolerans sağlamak adına özellikle *Arthrobacter*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Caulobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Agrobacterium*, *Chromobacterium* ve *Hypomycrobium* cinsleri ile gerçekleştirilen araştırmalar çevresel streslerin etkisini hafifletmek için kullanılmaktadır (Lahsini vd., 2022). *Bacillus*, *Pseudomonas* ve *Rhizobium* bakteri strainleri ile yapılan bir çalışmada, biyopolimer olan EPS üreterek, stres sırasında bitkilerde direnç veya tolerans sağlayan bir biyofilm sentezlenmesinde görev alarak bitki büyümesini indükledikleri bildirilmiştir (Lahsini vd., 2022). Diğer yandan ROT'ların temizlemesine, lipit peroksidasyonu azaltmasına, protein yapısının ve hücre içi zar bütünlüğüne, Na⁺ girişinin azaltılmasına, tohum çimlenmesinde artışa, fotosentezin artmasına ve besin alınımına PGPR'lerin doğrudan etkisi vardır. Tuzlu topraklarda bazı PGPR'ler bitkilere demir ihtiyacını karşılayan siderofor üretimi ile o toprak şartlarında bitkinin büyümesine ve gelişimine pozitif etki sağlamaktadır (Phour ve Sindhu, 2022). Ayrıca bazı toprak bakterileri, P ve K gibi bitki için gerekli olan besin elementlerinin alınımını artırarak abiyotik streslerin hafifletilmesine yardımcı olmaktadır (Saboor vd., 2021). Bitki bakteri arasındaki bağ

incelendiğinde çeşitli fitohormonların üretimi, kök ve sürgün büyümesi, çiçeklenme, hücre bölünmesi ve gelişimi, gen ifadesi ve stres tepkileri dahil olmak üzere birçok fizyolojik ve biyokimyasal süreci tetikledikleri gösterilmiştir. Örneğin bitki için en önemli hormonlardan biri olan oksin PGPR'ler tarafından üretilir ve özellikle büyümeyi teşvik edici özelliği olan kök gelişim mekanizmalarını (kök uzunluğunu, kök salgı seviyesini, kök yüzey alanını ve köklerin dallanmasını arttırarak yanal kök oluşumu) teşvik etmektedir. Bitkilerde en yaygın bulunan oksin olan IAA'nın (indol-3 asetik asit) PGPR aracılı üretiminin artması çevresel stres koşulları altında bitkiyi büyüme ve gelişimini teşvik ettiği bildirilmiştir (Phour ve Sindhu, 2022). Araştırmalar bitkiler için diğer bir önemli hormon olan sitokininin PGPR strainleri tarafından üretilmesinin bitkilerde tuzluluk ve kuraklık streslerine karşı korumada faydalı olduğunu kanıtlanmıştır (Liu vd., 2013). Ek olarak, sitokinin hormonunun hem ABA aracılı stres sinyalleşmesinde hem de bitki büyüme ve gelişiminde önemli bir düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir. PGPR uygulamaları ile sentezlenen gibberellinler ise gövde uzaması, kök sayısı, kök uzunluğu, tohum çimlenmesi, fotosentez hızı, toplam klorofil miktarı, meyve ve çiçeklenme yoluyla bitki büyümesini teşvik edici olduğu bildirilmiştir (Zaidi vd., 2015). Bitkiler hem abiyotik hem de biyotik stres ile karşı karşıya kaldıklarında kök dallanmasını, kök tüy oluşumunu, nodül gelişimini negatif yönde etkileyen etilen hormonun üretimi artmaktadır. Bu nedenle etilenin öncüsü olan ACC, bakteriyel ACC deaminaz tarafından 2-oksobütirat ($C_4H_6O_3$) ve amonyaka (NH_3) dönüşerek bitki köklerindeki etilen yoğunluğunu düşürür ve oksin hormon yanıtlarını arttırır, böylece dolaylı yoldan olsa da bitki büyümesi ve gelişimini teşvik eder (Chaudhary ve Sindhu, 2017). Özellikle ACC deaminaz üreten PGPR strainleri, tarımsal açıdan abiyotik stres ile savaşılabilmek için bitkilere aşılı olarak büyümenin ve gelişimin indüklenmesi sağlanmıştır (Gupta ve Pandey, 2019). Örneğin ACC deaminaz ürettiği bilinen PGPR strainlerinin (*Aneurinibacillus aneurinilyticus* ACC02 ve *Paenibacillus* sp. ACC06) tuz stresi altındaki fasulye fidelerine aşılması ile etilen hormonunun yaklaşık %60 azaldığı ve strese karşı tolerans sağlandığı bildirilmiştir (Gupta ve Pandey, 2019).

1.6. Tuz Stresi Altındaki Bitkilerde PGPR'lerin İşlevi

İklimsel değişiklikler sonucu tuzlanan topraklarda PGPR kullanımı, çevre dostu ve toprakta sürekliliği ifade ettiklerinden aynı zamanda sağlık açısından da kimyasal içerikli

gübrelerle kıyasla çok daha iyi bir yaklaşım sunmaktadır. Böylece bu streslerle başa çıkmak için PGPR aşılannmış toprakta bakteriler çoğalır ve yıllarca hayatta kalmalarını sağlar. Bu amaçla, PGPR'ler çevresel streslerin yoğun olduğu bitki kök bölgesinden izole edilmelidir (Sandhya vd., 2010). Küresel iklim değışikliğinin sunduğu en kötü senaryoda bile PGPR'lerin kullanılması, organik tarımı teşvik etmek için çevre dostu bir strateji olabilir. Tuzlu yaşam alanlarındaki bitkiler PGPR aşılannmasıyla, tuz stresine karşı direnir ve bunu iki mekanizma ile gerçekleştirir (Etesami ve Beattie, 2017). Bunlardan ilki hücre içi ozmotik potansiyelinin korunmasıdır ve bu özellik halobakteriler ile aşırı halofil arkelerde keşfedilmiştir (Kunte, 2009). PGPR'ler bunu hücre içi K⁺ oranını yüksek konsantrasyonda tutarak gerçekleştirirken, Na⁺ iyonunu Na⁺/K⁺ pompaları ile fazla olanı hücre dışına atarlar. İkinci mekanizma ise, PGPR'nin hücre metabolizmayı kontrol altına alarak su dengesini ve elektrolit iletkenliğini koruyarak yüksek tuz konsantrasyonunda proteinlerin, zar lipidlerinin ve suda çözünen uyumlu maddelerin (glisin betain, prolin, şekerler ve trehaloz) üretimini arttırlar (Ullah vd., 2021). Diğer yandan artan tuz stresine karşı antioksidan savunma sistemini indükleyerek ROT'ların süpürülmesine yardımcı olurlar. Ayrıca IAA ve sitokinin üretimini arttırarak tohum çimlenmesi, kök ve yaprak büyümesi ile fotosentetik verime pozitif etki sağlarlar. Tuz stresi koşullarında PGPR etkilerinden bir diğeri ise, stres sinyali olarak görev alan etilen ve ABA fitohormonların azaltarak kök büyümesine, vejetatif büyümeye ve sonuçta verimliliğe katkı sağlamalarıdır (Ullah vd., 2021) (Şekil 8).



Şekil 8. Tuz stresi altındaki bitkilerin PGPR aracılı tuz toleransı (Ullah vd., 2021'den değiştirilerek).

Tuz stresinden sonra bitkide bazı genlerin değişmesi söz konusudur bu durumda Niu vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada *Bacillus subtilis* GB30 ile aşıl原因anan *Pucciniella tenuiflora* tuz stresi altında köklerde HKT1 ve SOS1 genlerinin yukarı regülasyonu ile Na^+ birikimi azaldığını göstermişlerdir. Toprakta doğal olarak var olan mikroorganizmalar çimlenme, kök gelişimi, klorofil içeriğini ve biyokütleyi arttırarak ve hastalıklara karşı savunma sağlayarak tuzlu koşullar altında büyümeyi teşvik etmişlerdir. Özellikle son zamanlarda, *Rhizobium*, *Bacillus*, *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Pantoea*, *Burkholderia*, *Paenibacillus*, *Serratia*, *Variovorax*, *Enterobacter*, *Enterococcus* ve *Stenotrophomonas* cinslerine ait bakteri grupları tarımsal verimliliğe katkı sağladıkları bildirilmiştir (Kumawat vd., 2022). *Klebsiella* sp. IG3 ve D5A strainleri ile yapılan bir başka çalışmada IAA üretimi, besin emilimi, biyolojik azot fiksasyonu ve siderofor üretimi ile pH adaptasyonuna bağlı WRKY1 (biyotik stres ile karşılaşan bitkide kodlanan transkripsiyon faktörü) ve RBCL (Rubisko kodlayan gen) genlerinin arttığını bildirmişlerdir (Sapre vd., 2018). Böylece genomik ve transkriptomik yollar aracılığıyla genlerin ekspresyonu, bitki-bakteri ilişkisinde tuz stresine karşı moleküler düzeyde dayanıklılıkla ilişkili olabilir. Tuz stresi ile karşılaşan bitkilerde SOD, APX ve CAT dahil olmak üzere ROT süpürücü enzimlerin seviyesi azalır ve ROT konsantrasyonunun artış tetiklenerek bunların proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar

vermesine neden olur ve bitkide hasarı arttırır (Das ve Roychoudhury, 2014). Tuza dayanıklı olarak belirlenen PGPR aşılması, tuzluluk stresi altında SOD, nitrat redüktaz (NR), CAT, POX ve GR gibi antioksidan enzimler üretimini arttırdığını bildirmişlerdir (Egamberdieva vd., 2019).

1.7. Tarımda PGPR Uygulamalarının Gelecekteki Potansiyeli

Küresel ısınma kaynaklı iklim değişikliği, mevsimleri negatif yönde etkileyerek artan sıcaklıklar ve azalan yağış oranı toprak yüzeyinde tuz birikmesine neden olarak tarım arazilerinin fizikokimyasal özelliklerini bozmaktadır. PGPR uygulamaları, tuz stresi altında bitki büyümesini teşvik eden çeşitli maddeler (ozmolitler, antioksidanlar enzimler, nitrik oksit, ACC deaminaz ve uçucu organik bileşikler ve fitohormonların üretimi) üreterek büyümesi ve gelişmesi üzerine fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler mekanizmalarla bitkiyi pozitif yönde desteklemektedir. Bu mekanizmalar aracılığıyla PGPR'ler tuz toleranslarında, sinyal molekülleri olarak görev alan ikincil metabolitlerin üretimini artırır (Shultana vd., 2022). Diğer yandan ACC deaminaz ve IAA üretmeleriyle, kök uzaması ve kök biyokütlesini arttırması ve tarımsal bitkilerin iyon homeostazisini iyileştirerek tuzluluğa karşı tolerans sağlarlar (Kumawat vd., 2022). Bitki büyümesini ve tarımsal verimliliği arttırma özelliklerinin yanı sıra pestisit kirliliğini ve çevreyi kirleten kimyasal içerikli zirai ilaçları ve kimyasal gübre kullanımını kontrol etmede tüm ekosistemin sağlığı açısından önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle, tuzdan etkilenen tarım arazileri tarımsal verimlilik açısından daha iyi incelenmeli ve tuzlu toprak rizosferin de yaşayan bakteriler PGPR olma mekanizmaları biyokimyasal, genlerin ve sinyal yollarının moleküler düzeyde derinlemesine araştırmalı ve uygun bakteri adayları seçilerek sürdürülebilir tarıma katkı sağlanmalıdır (Sagar vd., 2022)

1.8. Arpanın Botanik Tanımı ve Zirai Önemi

Hordeum vulgare L. taksonomik olarak *Poaceae* ailesinden tek yıllık tarım için önemli bir tahıl bitkisi olup daha çok kültür arpası olarak adlandırılmaktadır. Arpa embriyosu sketellum, radikula, epikotil ve epikotil ile radikula arasında bir nodal bölgeden

meydana gelmektedir (Visioni, 2020). Arpa sıra ve kılçık sayısı bakımında 7 çift kromozoma sahip diploid bir bitkidir. Dünyada tüm ülkelerde tarımı yapılan 35 arpa *H. vulgare* türüne dahildir. Arpa'nın yaklaşık %72 nişasta, %14 protein ve %6 lignin, %6 β -glukan ve %7 selüloz içerdiği bildirilmiştir (Köten vd., 2013).

Çevresel streslere karşı dayanıklı olarak *H. patagonicum*, *H. jubatum*, *H. marinum*, *H. murinum* gibi çeşitli türler şiddetli tuz stresine karşı birçok çalışmaya kaynaklık eden önemli bir gen ailesine sahiptirler. Özellikle deniz arpası olarak bilinen *H. marinum* Huds. toprak tuzluluğunun yoğun olduğu bölgelerde yaşayan bir yabancı arpa türüdür (Seçkin vd., 2010). *H. vulgare* ve *H. marinum* morfolojik olarak birbirine benzerken kültür arpası, yabancı arpalara göre daha geniş yapraklara sahip, daha kısa sap, kılçık, başak ve büyük tohum özelliklerinden dolayı birbirinden farklıdır (Zohary vd., 2012). *H. marinum* özellikle ülkemizin Ege bölgesi tuzlu alanlarda ayrıca Van gölü çevresinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Bununla birlikte, *H. marinum*'un aşırı tuzlu topraklarda yayılış göstermesi onun *H. vulgare*'den belirgin şekilde ayrıldığı ve bunu tuza olan dayanıklılık mekanizmaları halen araştırılmaktadır (Garthwaite vd., 2005). Bu nedenle arpanın tuz toleransına ilişkin mekanizmaların fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler olarak araştırılması gerekmektedir.

1.8.1. Arpa Tarımı ve Verimi

Bilinen ilk arpa ekimine dair arkeolojik kanıtlar Orta Doğu'da M.Ö. 7000-6000'de bulunmuştur (Morrell ve Clegg, 2011). Kuzey Kutup bölgesi dahil tropiklere ve deniz seviyesindeki ovalara kadar çok geniş bölgelerde arpa yetiştiği bildirilmiştir (Körnicke, 1985). Diğer yandan tarımsal açıdan önemli bir tahıl bitkisi olmasına rağmen, hayvan yemi ve gıda endüstrisinde de kullanımı çok yaygındır. Türkiye'de arpa tarımının yapıldığı bölgeler incelendiğinde, üretimin tüm bölgelerde yapılırken, özellikle %70-80'lik kısmı kurak ve yarı kurak iklim özelliği taşıyan İç Anadolu bölgesinde diğer bölgelere kıyasla arpanın daha çok ekildiği bildirilmiştir (Sönmez ve Yüksel, 2019).

Türkiye'de geçmiş yıllara kıyasla 2021 yılında yaklaşık 3,2 milyon ha alanda 5,75 milyon ton üretim ve ortalama 181 ton/ha verim elde edildiği bildirilmiştir (TÜİK, 2022) (Tablo 1). Bu azalış, verim ve ürün kalitesi üzerinde olumsuz etki yaratarak tarım ile uğraşan çiftçileri zor durumu sokmaktadır. Ancak; arpa diğer tahıllarla karşılaştırıldığında su ve tuz

stresi koşullarına karşı dayanıklılık göstermektedir. Türkiye’de arpa üretiminin yağışa dayalı koşullarda gerçekleşmesi, değişik çevresel ve iklimsel koşullara adapte olan ve/veya tolere eden mekanizmalara sahip çeşitlerin kullanılmasını gerektirmektedir (Aktaş, 2017).

Tablo 1

Türkiye’deki arpa tarımının ekim, üretim ve verim alanları (TÜİK, 2022)

Yıl	Ekim (bin ha)	Üretim (bin ton)	Verim (ton/ha)
2017	24.247	7.100	293
2018	26.119	7.000	268
2019	28.690	7.600	265
2020	30.972	8.300	268
2021	31.691	5.750	181

Türkiye’de bölgesel olarak arazilerin parçalı oluşu, tarım uygulamalarının eksiklikleri, bilinçsiz şekilde kimyasal gübreleme gibi etkenler nedeniyle arpadan alınan verim giderek düşmektedir. Üretimi artarken veriminde aynı şekilde yüksek olması için, yetiştirme şartlarına uygun, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı en önemlisi de çevresel streslere karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir (Dirik vd., 2022). Özellikle geçmişten günümüze kadar gerçekleştirilen araştırmalar, genelde farklı kültürler kullanılarak arpanın kuraklığa ve tuza toleranslı olanları seçmeyle ilişkilidir (Stanca vd., 2003). Bunlar özellikle, iyon dışlama, membranlara bağlı pompaların aktivitesi, ozmolitlerin birikimi, diğer fizyolojik parametreleri ve anatomik değişimleri içermektedir. Geçmiş yıllara ait elektron mikroskobu ile yapılan bir çalışmada *H. marinum* ve *H. vulgare* türlerinde tuzlu koşullarda sitoplazma içeriğinin ve organel sayısının arttığı gözlenmiştir (Kesercioğlu, 1986). Son yıllarda ise doğada bulunan yabani *Hordeum* türlerinin çimlenme ve fide aşamasındaki tuzluluk toleransı ile ilgili çalışmalara odaklanılmıştır (Colmer vd., 2007).

1.8.2. Dünya’da ve Türkiye’deki Arpa Yetiştiriciliği

Dünya’nın tüm bölgeleri incelendiğinde yetiştirilen en önemli tarla bitkilerinden biri olan arpa üretim alanı bakımından buğday, mısır ve pirinçten sonra dördüncü sırada

sıralanmaktadır (Payandeh vd., 2021). Arpanın hayvanlar için yem olarak, endüstride gıda ve malt olarak kullanılması ve çevreden gelen etkilere karşı dirençli olması arpa tarımının geniş bir coğrafik bölgeye yayılmasını sağlamıştır (Hierro vd., 2021). Dünya arpa ekim alanları 2020/21’de yaklaşık 51,4 milyon ha olarak gerçekleşmiştir. Ekim alanlarının 2021/22 sezonunda ise yaklaşık 48,6 milyon hektar ile bir önceki döneme göre %5,4 daraldığı tahmin edilmektedir (Tablo 2). Özellikle AB, Ukrayna, Fas ve ABD arpa üretimindeki azalmanın Avustralya, Rusya, Türkiye, Kanada, Arjantin, İran’daki üretim artışından az olması sebebiyle 2020/21 dünya arpa üretiminin bir önceki sezona göre 3 milyon ton artışla 150,7 milyon ton olarak gerçekleştiği tahmin edilmektedir (TEPGE 2022). Dünya arpa ekim alanlarını incelediğimizde 2021/22’de yaklaşık 48,5 milyon ha olarak tahmin edilirken 2022/23 sezonunda ise yaklaşık 47,8 milyon hektar ile önceki döneme göre %0,7 azalacağı tahmin edilmektedir (Tablo 2). Ekim alanlarının 2022/23 üretim sezonunda ise yaklaşık 47,9 milyon ha olacağı öngörülmektedir (Tablo 2).

Tablo 2

Dünyadaki arpanın yıllara göre ekim, üretim ve verim alanları (TÜİK, 2022)

Yıl	Ekim (bin ha)	Üretim (bin ton)	Verim (ton/ha)
2018/19	48.858	139.623	2,9
2019/20	52.614	158.376	3,0
2020/21	51.374	159.408	3,1
2021/22 ¹	48.589	145.079	3,0
2022/23 ²	47.863	145.526	3,0

TÜİK, 2022 (Erişim tarihi: 10.07.2023), ¹/Tahmin, ²/Öngörü

Avustralya, AB, Kazakistan, Rusya ve Türkiye’deki ekim alanlarının çevresel stresler kaynaklı olduğu düşünülmektedir (TÜİK, 2022). Dünya arpa üretimi 2020/21 döneminde yaklaşık 159,4 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Üretim 2021 ve 2022 yıl aralığı incelendiğinde daha önceki dönem kayıtlarına göre yaklaşık %9 azalarak 145,1 milyon tona gerileyeceği tahmin edilmektedir. AB, Rusya, Türkiye, Kanada, Birleşik Krallık ve ABD’deki üretim miktarındaki bu gerileme; Avustralya, Ukrayna, Arjantin, İran’daki üretimin artış miktarından yüksek olması üretim düşüşünde etkin rol oynamaktadır (Tablo 3). AB’nin 2021 ve 2022 yıllarına baktığımızda ise dünya arpa üretimi sıralamasında yaklaşık

%36,4'lük pay ile ilk sırada olduğu tahmin edilmektedir. Ek olarak AB'yi yaklaşık %12,1'lik pay ile Rusya ve yaklaşık %9,4 pay ile Avustralya takip etmektedir (Tablo 3).

Tablo 3

Dünyadaki yıllık arpa üretiminde önde gelen ülkeler (bin ton)

Ülkeler	2018/19	2019/20	2020/21	2021/22 ¹	2022/23 ²
AB	49.470	55.180	54.324	52.800	50.900
Rusya	16.737	19.939	20.629	17.505	19.500
Avustralya	8.819	10.127	13.100	13.700	11.000
Kanada	8.380	10.383	10.741	6.948	9.700
Birleşik Krallık	6.510	8.048	8.117	6.961	7.050
Türkiye	7.000	7.900	8.100	4.500	7.000
Ukrayna	7.604	9.528	7.947	9.923	5.700
Arjantin	4.635	3.615	4.035	5.300	5.300
ABD	3.343	3.756	3.719	2.562	3.807
Diğer	27.125	29.900	28.696	24.880	25.569
Dünya	139.623	158.376	159.408	145.079	145.526

Dünyada 2021 ve 2022 yıl aralığında arpa üretim bunun sonucu olarak tüketim verileri incelendiğinde ilk sırada AB yer almaktadır. Arpa ithalatında Çin, ihracatında ise Avustralya ilk sırada yer almaktadır (Tablo 3). Ancak, 22 Temmuz 2022'de Türkiye, Rusya, Ukrayna ve BM devletleri "Tahıl Koridoru Anlaşması" imzalayarak limanlarında depolanan arpanın serbest bırakılmasının sağlamıştır.

Bu tez çalışmasında, tuza toleransları farklı bazı arpa türlerinin fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine denizel habitattan izole edilen bakterilerin etkilerinin belirlenmesine odaklanılmıştır. Bu bağlamda, deniz arpa otu (*H. marinum*) ve iki kültür arpasında (*H. vulgare* cv. Ocak ve *H. vulgare* cv. İnce-04) *M. luteus* ve *B. nealsonii* inokülasyonu ile 14 günlük tuz stresine (0, 100 ve 300 mM NaCl) karşı etkilerini fizyolojik analizler (kök-gövde uzunluğu, biyokütle, kuru ağırlık, yaş ağırlık), biyokimyasal analizler (toplam protein miktarı, pigment içeriği, H₂O₂, TBARS, reaktif oksijen türlerinin histokimyasal belirlenmesi ve antioksidan enzim aktiviteleri (POX ve CAT)) ve izoenzim profillerindeki (SOD, POX ve CAT izoenzim) değişimler belirlenmiştir.

İKİNCİ BÖLÜM

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tuz stresinin arpada oluşturduğu fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin tuz toleransının artırılması için gerçekleştirilen çalışmalar aşağıda verilmiştir. Ek olarak, tuz stresi kaynaklı meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal etkilerin arpa bitkisinde PGPR uygulamaları ile elde edilen çalışmalarda sunulmuştur.

2.1. Arpada Tuz Toleransında Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Araştırmalar

Tuz stresi, küresel iklim değişiklikleri ve yanlış tarım uygulamaları ile tüm dünyada verimliliği düşüren abiyotik stres faktörlerinden biridir. Tuzluluk, bitkilerde morfolojik, fizyolojik, anatomik, biyokimyasal ve moleküler düzeyde etkileyerek; bitkilerde çimlenme, büyüme, gelişim ve verimini engeller (Zhang ve Dai, 2019). Tarımsal üretime bakıldığında *H. vulgare* ekili ürünlerin arasında en yaygın olmasına rağmen tuz stresine karşı hassas oldukları bilinmektedir (Seçkin vd., 2010). Bu nedenle, tuz stresinin etkileri ile mücadele etmek için tuz toleransını artırmanın ne kadar önemli olduğuna dair birçok çalışma yürütülmektedir (Arif vd., 2022).

Jin vd. (2009) tuz stresi altındaki (0, 50, 100, 200 mM NaCl) iki *H. vulgare* L. çeşitlerinde (tuza dayanıklı, Gebeina; tuza hassas, Quzhou) POX ve SOD enzim ve izoenzim aktiviteleri arasındaki farkı araştırdıkları bir çalışmada, her iki enzim aktivitesinin arttığını özellikle tuza dayanıklı olan Gebeina çeşidinde aktivitenin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak stres süresi uzadıkça, 200 mM NaCl stresi altında her iki çeşitte yeni izoenzim bantları belirlenirken, stresten 30 gün sonra Gebeina çeşidinde tek bir bant dışında tüm yeni SOD izoenzimlerinin kaybolmasını yeni izoenzimler üretmek için olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bağlamda artan tuz stresi koşullarında dayanıklı çeşit olan Gebeina'nın tuz tolerans mekanizmaları geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Somayeh vd. (2012) yaptıkları çalışmada, tuz stresi altındaki (0, 50, 150 ve 250 mM NaCl) *H. vulgare* (Jonoob, Reyhan Nosrat) çeşitlerinde çimlenme sayısı, kök-gövde uzunluğu, kuru ağırlık ve klorofil içeriği (K1-a, K1-b ve K1 a+b) azalırken prolin ve suda çözünür karbonhidrat miktarlarını arttığını belirlemişlerdir. Diğer yandan Nosrat çeşidinde

kontrole kıyasla klorofil miktarının diğer iki çeşide göre daha az olduğunu bunun nedenin yapraklarında prolin ve çözünebilir şeker miktarının artışına ilişkin tolerans mekanizmasıyla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Yıldız ve Terzi (2013) tuz stresi altında (0, 100, 200 ve 300 mM NaCl) tuz hassas olan Avcı-2002 çeşidinde kuru ağırlığın ve pigment içeriklerinin azalırken tuza dayanıklı olan Tokak 157/37 çeşidinde ise bunların sadece 300 mM NaCl 'de azaldığını belirlemişlerdir. Diğer yandan Tokak 157/37 çeşidinde artan tuz stresinin ROT üretimini ve buna bağlı olarak hücrel hasarın bir indikatörü olan MDA içeriğini arttırdığını ancak SOD, POX, APX ve CAT aktivitelerinin azaldığını belirlemişlerdir. Sonuçta artan kuru ağırlık, pigment içeriği, prolin içeriği, POX ve APX aktivitelerindeki artış ve azalan MDA içeriğine bağlı olarak Avcı-2002'nin tuza dayanıklı olduğunu belirlenmiştir.

Benlioğlu ve Özkan (2015) tuz stresi altında (3, 6, 9, 12 ve 15 g/L NaCl) *H. vulgare* çeşitlerinin (Aydanhanım, Bülbül-89 ve Tarm-92) çimlenme aşamasındaki etkilerini inceledikleri çalışmada tuz stresinin artmasıyla birlikte tüm çeşitlerde çimlenme oranı, çimlenme süresi, yaş ağırlık, kök ve gövde uzunluğu azalmıştır. Ancak artan tuz stresisiyle diğer çeşitlere kıyasla çimlenme aşamasında Tarm-92 çeşidinin diğer çeşitlere kıyasla daha toleranslı olduğunu bildirmişlerdir.

AsA, bitkilerde enzimik olmayan önemli bir antioksidan olup biyotik ve abiyotik stresin neden olduğu oksidatif streslere aracılık etmede önemli bir rol oynamaktadır Hassan vd. (2020), tuz stresi altındaki (0 ve 150 mM) *H. vulgare*'de farklı AsA düzeylerinin (0, 30 ve 60 mM) etkisini araştırdıkları bir çalışmada, artan tuz stresinin *H. vulgare*'de kök gövde uzunluğunu, biyokütleyi ve fotosentetik pigment miktarını azalttığını ve böylece ROT üretimini artırırken eksojen AsA uygulamasıyla kök gövde uzunluğu, yaprak alanı, yaprak sayısı, kardeş sayısı, yaş ve kuru biyokütlesi, pigment içerikleri ve antioksidan enzim aktiviteleri (SOD ve POX) önemli ölçüde arttırdığını ve bitkilerde oksidatif stresi (H_2O_2 ve MDA) azalttığını belirlemişlerdir. Bu nedenle, eksojen AsA uygulamasının *H. vulgare*'de tuzluluk stresini iyileştirebileceğini ve tuz stresi altında büyümeye pozitif etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Jabeen vd. (2020) tuz stresi altındaki (0 ve 300 mM NaCl) yabancı arpa XZ16 (tuza dayanıklı), kültür arpa CM72 (tuza dayanıklı) ve Gairdner (tuza hassas)'da antioksidan enzim aktivitelerini araştırdıkları bir çalışmada, XZ16 çeşidinin CM72 çeşidine kıyasla yaprak-kök dokularında daha az Na^+ girişi ile daha fazla K^+ , Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyon birikimine

sahip oldukları bildirilmiştir. Ek olarak, XZ16 çeşidinde diaminobenzidin (DAB) ve nitroblue tetrazolium (NBT) boyama ile daha düşük H₂O₂ ve O₂⁻ lokalize olurken hassas çeşit Gardner'de yüksek H₂O₂ ve O₂⁻ lokalizasyonu olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan, Gairdner çeşidine kıyasla yabancı arpanın iyon homeostazını düzenleme, prolin artışı ve artan POX ve CAT aktivitesi ile H₂O₂ ve O₂⁻ temizlenmesini sağladığını ve bunu altında yatan tuz tolerans mekanizmasının moleküler düzeyde araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Isayenkov vd. (2020) ozmotik (500 mOsm; ozmotik basınç değeri) ve 300 mM NaCl altında hidroponik koşullarda yetiştirilen deniz arpasının (*H. marinum*) adaptasyon stratejilerinin *H. vulgare* ile metabolomik ve transkriptomik olarak karşılaştırıldığında, büyüme oranının, bağıl su içeriğinin ve fotosentetik aktivitelerin ve ozmolitlerin arttığını, transkript profillerinin ozmotik stres ile daha güçlü ifade olduklarını bildirilmiştir. Ek olarak halofilik yabancı *H. marinum*'un farklı türlerinde farklı tuz tolerans genlerinin aktivasyonu bağlamında halen deniz arpasının tuz toleransının bilinmeyen mekanizmalarının araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Akhter vd. (2021) tuz stresi altındaki on iki arpa çeşidinin tuz toleransını morfolojik analizler (biyokütle, gövde ve kök uzunlukları), iyonik içerikler (Na⁺ ve K⁺) ve fotosentetik pigmentler (kl-a, kl-b, kl-t) temelinde inceledikleri çalışmada, tüm arpa çeşitlerinde Na⁺ birikiminin arttığı ve K⁺ birikiminin azaldığı belirlenirken, K⁺ birikiminin tuza duyarlı çeşit B-14011 daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan artan tuz stresi nedeniyle biyokütle ve fotosentetik pigment içeriklerinin arttığı dayanıklı çeşit B-10008'in tuz tolerans mekanizmasının fotosentetik mekanizmalar ile bunu sağladığı bildirilmiştir.

Sharma vd. (2021) tuz stresi altındaki (0, 100, 200 ve 300 mM NaCl) altı arpa (*H. vulgare* L.) çeşidinin fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerini belirledikleri çalışmada, tuza dayanıklı arpa çeşitlerine (DL88, NB1, NB3 ve NDB1173) kıyasla tuza duyarlı Alfa93 ve DWRB73 çeşitlerinde fide büyümesi, BSİ ve elektrolit sızıntısının azaldığı bildirilmiştir. Özellikle 300 mM NaCl uygulaması ile Alfa93 ve DWRB73 çeşitlerinde elektrolit sızıntısı sırasıyla, %26,0 ve %20,6 artarken, DL88, NB1, NB3 ve NDB1173'te sırasıyla %17,6, 14,6, 15,3 ve %10,4 olarak belirlenmiştir. Ek olarak kl-a miktarının 300 mM NaCl 'de Alfa93 ve DWRB73'te kontrole kıyasla sırasıyla %49.5 ve %59.5 azaldığı belirlenirken NDB1173'te 14 gün sonra kl-a miktarının azaldığını belirlenmiştir. Diğer yandan duyarlı çeşit Alfa93 ve DWRB73'te antioksidan enzim (SOD, POX, CAT, APX) aktivitelerinin toleranslı çeşitlere

kıyasla azalırken DWRB73 çeşidinin incelenen arpa çeşitleri arasında tuza en duyarlı çeşit olduğunu ifade edilmiştir.

Hassan vd. (2021) farklı tuzluluk konsantrasyonlarında (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl) *H. vulgare*'nin büyüme parametreleri, biyokütle, fotosentetik pigmentler, stoma özellikleri, antioksidan enzim aktivite ve gen ifadelerini inceledikleri bir araştırmada, artan tuz stresıyla MDA ve H₂O₂ miktarı ile birlikte elektrolit sızıntısının arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar eksojen AsA uygulamasının ise tuz stresinin olumsuz etkilerini hem fizyolojik hem de biyokimyasal (SOD, POX, CAT ve APX aktivitelerini artırarak) olarak iyileştirdiğini bildirmişlerdir.

Yıldız Teker ve Acar (2022) sekiz arpa çeşidinde (Kıral-97, Harman, Yaprak, Yaba, Larende, Cumhuriyet-50, Kalaycı-97, Çıldır-02) tuz stresinin (0, 50, 100, 200 mM NaCl) fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırdıkları bir çalışmada Cumhuriyet-50, Larende ve Çıldır-02 çeşitlerinde kök-gövde uzunluğu, biyokütle, pigment içeriği, spesifik yaprak alanı (SLA), BSİ değerlerinin azaldığı, TBARS ve H₂O₂ miktarı, H₂O₂ ve O₂⁻ iyonlarının histokimyasal lokalizasyonlarının arttığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar Kıral-97, Harman ve Kalaycı-97 çeşitlerinin tuzluluğa orta derecede toleranslı olduğunu, Yaprak ve Yaba çeşitlerinin ise diğer çeşitlere kıyasla azalan TBARS, H₂O₂ ve histokimyasal lokalizasyon ile artan biyokütle ve pigment içerikleri temelinde tuz stresinden daha az etkilendiklerini belirleyerek bu çeşitlerin tuz stresine dayanıklı olduklarını bildirmişlerdir.

Nefissi Ouertani vd. (2022) hidroponik koşullar altında tuz stresine (0, 2, 8 ve 24 saat, 200 mM NaCl) maruz kalan tuza dayanıklı (Boulifa) ve duyarlı (Testour) iki arpa çeşidi arasındaki moleküler ve biyokimyasal farklılıkları belirlemek için, transkriptomik ve antioksidan enzim profilleri ile çeşitli morfo-fizyolojik özelliklerini inceledikleri araştırmada, Boulifa çeşidinin Testour çeşidine kıyasla biyokütle, yaş ve kuru ağırlık, gövde uzunluğu ve BSİ içeriğinin azaldığını, pigment içeriğinin ise 200 mM NaCl 'de her iki çeşitte de azaldığını belirlemişlerdir. Ek olarak 24 saat 200 mM NaCl maruz kalan Boulifa çeşidinde antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, APX, GPX ve GR) artarken, Testour çeşidinde ise APX ve GR enzimlerinde hafif artışlar belirlemişlerdir. Bu bağlamda Boulifa çeşidinde artan enzim aktivitesi ve artan tuza duyarlı gen ifadeleri (MYB20 ve MYB41) ile tuz toleransını indükleyerek ROT temizlenmesinde başarılı olduğunu tespit etmişlerdir.

Gama aminobütirik asit (GABA), oksidatif hasara karşı koruma sağlayan, azot metabolizmasını düzenleyen ve abiyotik ve biyotik stres yanıtlarında düzenleyici olan ikincil

bir metabolittir. Üç arpa çeşidinde (*H. vulgare* cv. *Acsad 176*, cv. *Athroh* ve cv. *Rum*) oksidatif hasarın, tohum çimlenmesinin ve fide büyümesini incelendiği bir çalışmada NaCl (0-200 mM), mannitol (0-300 mM) ve sorbitol (0-300 mM) konsantrasyonları arttıkça tüm çeşitlerde tohum çimlenmesinin, yaş ağırlığının ve kuru ağırlığının azaldığı tespit edilmiştir. Diğer yandan artan NaCl konsantrasyonları ile *Athroh* ve *Rum* çeşitlerinde MDA miktarının arttığı ve özellikle 300 mM NaCl ile yüksek GABA biriktirdikleri belirlenmiştir. *Acsad 176* çeşidinin azalan MDA miktarı ve artan karbonhidrat birikimi nedeniyle diğer arpa çeşitlerine kıyasla tuz stresine karşı daha yüksek toleranslı olduğunu bildirilmiştir (Al-Ajlouni vd., 2023).

Bouhraoua vd. (2023) tuz stresi koşulları altındaki (0, 200 ve 300 mM NaCl) dört arpa çeşidinde (*H. vulgare* cv. *Massine*, cv. *Laanaceur*, cv. *Amira* ve cv. *Adrar*) artan tuz stresiyile kök ve gövde uzunluğunun, yaş ve kuru ağırlıkların, BSİ'nin ve pigment içeriklerinin azaldığını ve elektrolit sızıntısının arttığını belirlemişlerdir. Kontrole kıyasla *Massine* ve *Laanaceur*'da daha yüksek kuru ağırlık ve prolin içeriği, *Amira* ve *Adrar*'da ise düşük BSİ ve pigment içerikleri belirlenmiştir. Bu bağlamda artan tuz stresinden hücreyi korumanın biriken ozmolitler sayesinde olduğunu ve bunun *Massine* ve *Laanaceur* çeşitlerinin tuz tolerans mekanizmalarından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

2.2. Arpanın Tuz Toleransında PGPR'lerin Fizyolojik, Biyokimyasal ve Genetik Etkileri

Dünya nüfus artışına paralel olarak artan gıda problemlerinin azaltılmasında tüm ekosisteme katkı sağlayan sürdürülebilir ve çevre dostu tarım uygulamalarında PGPR'lerin çalışmaları giderek önem kazanmaktadır. Bu bağlamda küresel iklim değişikliğinin sonuçlarından biri olarak karasal ekosistemdeki bitkilerin tuz stresine karşı mücadelesinde bitki-bakteri arasındaki fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler çalışmalar umut vaat etmeye devam etmektedir. Ayrıca, PGPR'lerin biopriming ve/veya toprağa direk sulama suyu şeklindeki uygulamalarını kapsayan araştırmalar, tuz stresi altındaki arpada iyon dengesinin korunduğunu, oksidatif hasarın azaldığını, antioksidan mekanizmanın geliştiğini ve gen ifadelerinin düzenlendiğini, böylece tarım ürünlerinin büyüme ve verimliliğinin arttığını göstermişlerdir (Ferioun vd., 2023). Diğer yandan, tuz stresine karşı olan duyarlılığı nedeniyle tüm Dünya için önemli bir tarla bitkisi olan arpanın üretiminde gelecekte azalmaların olacağı öngörülmektedir (Yıldız Teker ve Acar, 2023). Türkiye'de

sürdürülebilir tarım ve ekosistem dostu uygulamalarının geliştirilmesi ihtiyacı nedeniyle *Vitis* (Köse vd., 2005), *Rubus idaeus* (Orhan vd., 2006), *Malus* (Aslantas vd., 2007), çilek (Esitken vd., 2010), ayva (Gerçekcioğlu, 2018), hıyar (Olur vd., 2021), marul (Çelik, 2022), adaçayı (Yolci vd., 2022), karnabahar (Yıldırım ve Civelek, 2022), buğday (Teker Yıldız vd., 2023) gibi farklı kültür bitkilerinde verimin arttırılması ve bitki-patojen hastalıklarıyla mücadele için araştırmalar yapılmıştır.

Çakmakçı vd. (2007), sera koşullarında gerçekleştirdikleri çalışmada, *Bacillus licheniformis* RC02, *Bacillus megaterium* RC01, *B. megaterium* M-13, *Rhodobacter capsulatus* RC04, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *Pseudomonas putida* RC06 ve *Bacillus* OSU-142 izolatlarının *H. vulgare* tohumlarına aşılmasının kök ağırlığını %32, gövde ağırlığını %54 ve besin elementlerinin alımını da (N, Fe, Mn ve Zn) arttırdığını bildirmişlerdir.

Şahin vd. (2010), laboratuvar koşulları altında *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus pumilus*, *Paenibacillus polymyxa* *Arthrobacter agilis*, *Arthrobacter viscosus*, *Arthrobacter aurescens*, *Brevibacillus choshinensis*, *Pantoea agglomerans* ve *Micrococcus luteus* izolatlarının *H. vulgare* bitkisine inokülasyonu ile fizyolojik analizleri inceledikleri araştırmada kontrole kıyasla tüm bakteri uygulamalarının arpanın yaş ağırlığı, gövde uzunluğu, kök uzunluğu ve toplam kök sayısının arttırdığını bildirilmiştir.

Çakmakçı vd. (2014), tarla koşulları altında *B. megaterium* M3, *B. megaterium* RC07, *B. licheniformis* RC08, *Azospirillum brasilense* Sp.245 ve *Paenibacillus polymyxa* RC05 bakteri kombinasyonlarının *H. vulgare*'ye uygulanmasının kök ve sürgün ağırlığını arpada %21,4-23,8 ve dane verimini %8,3-19,1 arttırdığını bildirmişlerdir.

Talay (2019), tarla ve sera koşulları altında *B. megaterium* ve *B. subtilis* ile inoküle edilen *H. vulgare* çeşitlerinde (Beyşehir-98, Konevi-98 ve Karatay-94) fizyolojik olarak toplam verim miktarı ve verim kalitesi üzerine gerçekleştirdikleri analizlerde, inoküle edilen çeşitlerden Beyşehir-98 en yüksek toplam verim ve bitki boyuna (sırasıyla, 1332,8 kg da⁻¹ ve 102,5 cm) sahipken Karatay-94 (123,3 kg da⁻¹) çeşidinde ise en düşük tane verimi elde edilmiştir. Ek olarak PGPR uygulamalarının Beyşehir-98 ve Konevi-98 çeşitlerinde gövde uzunluğunu diğer çeşitlerden daha fazla arttırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, *B. megaterium*, *B. subtilis* bakterilerinin arpa tohumlarına PGPR olarak uygulamasının tarımsal verimliliğine katkı sağladığını gösterilmiştir.

Bitki rizosferinde artan tuzluluk tarımsal verimliliği olumsuz etkileyerek ekosisteme giderek daha çok zarar vermektedir. Ayrıca tuz stresine dayanıklı olan halofilik PGPR izolatlarının arpa türlerinde büyüme ve gelişimi iyileştirdikleri ve daha çok araştırılması gerektiği bildirilmiştir (Sagar vd., 2022). Bu bağlamda hidrofonic sistemde tuz stresi altında yetiştirilen arpaya, tuzlu topraklardan izole edilen halofilik bakteriler, PGPR aktiviteleri açısından incelenmiştir. Özellikle IAA, siderofor ve HCN üretimi, N fiksasyonu, ACC deaminaz aktivitesi ve fosfat çözünürlüğü en iyi olan dört bakteri izolatu (*Marinibacillus* sp. EM1, *Zihengliuella salsuginis* EM30, *Planococcus* sp. EK9 ve *Promicromonospora* sp. EK12) arpaya aşılanarak kontrole kıyasla 200 mM NaCl stresi altında bitki büyümesini sırasıyla 81.86, 80.51, 70.62 ve 69.22 arttırdığını bildirilmiştir. Diğer yandan, aşılanmamış arpa bitkilerine kıyasla, *Z. salsuginis* EM30, *Promicromonospora* sp. EK12, *Planococcus* sp. EK9 ve *Marinibacillus* sp. EM1, 200 mM NaCl'nin zararlı etkilerini iyileştirmiş ve arpanın toplam yaş ağırlığının sırasıyla %81.86, %80.51, %70.62 ve %69.22 arttığı bildirilmiştir (Orhan ve Demirci, 2020).

Altuner vd. (2022), tarla denemesi koşullarında *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Lactococcus* spp. ile inoküle edilen beş *H. vulgare* çeşidinde (Tarm, Beyşehir, Konevi, Karatay ve Kral) gerçekleştirilen araştırmada kontrole kıyasla başak sayısı, başak boyu ve bin tane ağırlığı gibi verim açısından önemli olan fizyolojik parametrelerin tüm çeşitlerde arttığını ve bu artışın özellikle inoküle edilen Tarm çeşidinde en iyi sonucu verdiğini belirlemişlerdir.

Güler (2022), Kırşehir ilinin topraklarından izole ettiği 56 farklı cinse ait 142 adet bakteriyi PGPR olma özellikleri için incelendiğinde; fosfat çözme, azot fiksasyonu, siderofor üretimi bakımından *Aromatoleum evansii*, *Arthrobacter crystallopoietes*, *Blastomonas natatoria*, *Methylobacterium rhodesianum*, *Paenarthrobacter histidinolovarans*, *Pantoea agglomerans*, *Sphingobacterium multivorum*'un pozitif değer verirken, IAA üretimi bakımından *P. agglomerans*, *Pseudomonas vulneris*, *P. brassicacearum*, *P. chlororaphi*, *P. jessenii*, *P. korensis*, *P. lutea*, *P. thivervalensis*, *Sphingobacterium spiritivorum*, *Staphylococcus warneri*, *Streptomyces badius*'un tarımsal üretimde arpa-PGPR araştırmalarında kullanılabileceğini tespit etmiştir.

Karademir (2022), *Stenotrophomonas maltophilia* TV14B (fosfat çözücü) *Pseudoalteromonas tetraodonis* TV126C (azot bağlayıcı), *Bacillus-GC* TV119E (fosfat çözücü), *P. agarici* TV24C (azot bağlayıcı) ve *P. tetraodonis* TV126C ile B.-GC group TV119E'nin bir arada ikili kombinasyonu olmak üzere 5 farklı bakteri uygulamasının arpada

protein miktarı, hektolitre ağırlığı, nişasta oranı, bitki boyu, başak boyu, kardeş sayısı, metrekarede başak sayısı, başakta tane sayısı, başakta tane ağırlığı, bin tane ağırlığı, tane verimi, biyolojik verim ve hasat indeksine etkilerini incelediği araştırmasında en yüksek tane verimi ve biyolojik verimin TV12C+TV119E kombinasyonundan elde edilirken, TV126C+TV119E ikili uygulamasında ise tane veriminde kontrole kıyasla 138,72 kg/da, biyolojik verimde ise 268,06 kg/da verim elde edildiğini belirlemiştir.

Türkiye’de yapılan PGPR-arpa araştırmalarında genellikle ürün miktarı, verimi, gelişimi ve fizyolojisi gibi özellikleri araştırılırken arpanın tuz stresine karşı toleransında hangi mekanizmaların çalıştığı ile ilgili biyokimyasal ve moleküler veriler halen yetersiz kalmaktadır. Dünya literatürüne göre PGPR-arpa çalışmalarının abiyotik stres faktörlerinden tuzluluğun etkilerini azaltmak için bitki gelişimini ve verimi desteklediğine işaret eden çok sayıda bulgu mevcuttur. Bitki-bakteri ilişkisinin iyileştirici etkisi olarak, bitkide ROT’ların süpürülmesinde antioksidan savunma sistemini harekete geçirerek oksidatif hasarın azaltıldığı ve tuz stresi altında yetiştirilen ürünlerin büyümesine katkı sağladığı bulunmuştur.

Baltruschat vd. (2008), Hindistan’daki Thar Çölü’nde *Prosopis juliflora* ve *Zizyphus nummularia* rizosferinden elde edilen kök endofiti *Piriformosporo indica* ile inoküle edilen *H. vulgare* bitkisinde gerçekleştirdikleri araştırmada büyümenin arttığı, tuz stresinin neden olduğu lipid peroksidasyonun, metabolik ısı akışının ve yağ asidinin azaldığı, antioksidan enzim (GR, APX, CAT) aktivitelerinin ise arttığı belirlenmiştir.

Omar vd. (2009), Tuz Stresi altında (250 ve 350 mM NaCl) *H. vulgare* (Giza 123 ve Giza 2000) çeşitlerine tuzlu topraklardan izole edilen *Azospirillum brasilense* (NO40) inokülasyonu ile gövde ve köklerde büyümeyi, fotosentetik pigmentleri, fotosentetik kapasiteyi, stoma iletkenliğini, terleme hızını ve K, P, Mg, Ca ve Fe birikimini iyileştirmiştir. Özellikle tuza hassas çeşitte antioksidan kapasiteyi (CAT, POX ve SOD) artırarak koruma sağladığı bildirilmiştir.

Bitkilerin tuz stresi nedeniyle su potansiyeli azalırken, PGPR’ler ile inokülasyon ile su ve besin homeostazının düzenlenmesi sonucu bitki büyüme ve gelişiminin artması tuz stresinin etkilerinin azaltmada hayati bir rol oynamaktadır (Groppa vd., 2012). Bu bağlamda tuzlu koşullar altında (200 mM NaCl) yetiştirilen arpa bitkilerine *A. brasilense* AZ39 inokülasyonu ile gerçekleştirdikleri çalışmada PIP tipi kök aquaporini olan HvPIP2;1 genin transkripsiyonunun arttığını böylece tuz stresine karşı *A. brasilense* AZ39 inokülasyonu bitki-su ilişkisini iyileştirdiğini bildirmişlerdir (Zawoznik vd., 2011).

Alikhani vd. (2013), *Piriformospora indica* izolatının *H. vulgare* bitkisine inokülasyonu ile Ca^{+2} seviyelerinin yükseldiğini, sinyal iletim yollarının aktivasyonunu sağlayarak yaprakta K^{+}/Na^{+} oranını arttırdığını bildirmişlerdir.

Tuz stresi altında bitki büyümesini teşvik ettiği veya iyileştirdiğine dair diğer PGPR aracılı tuz tolerans mekanizmaları arasında IAA, ACC deaminaz, sideroforlar, fosfat çözündürme ve uyumlu çözünen maddeler biriktirerek bitkinin büyüme gelişimine katkı sağladığı bildirilmiştir (Kumawat vd., 2022). Etilen öncüsü olan ACC, bakteriyel ACC deaminaz tarafından bitki köklerindeki etilen konsantrasyonunu düşürür ve IAA yanıt faktörü baskısını hafifleterek bitki gelişimini iyileştirir (Chaudhary ve Sindhu, 2017).

Chang vd. (2014), tarla ve sera koşullarında yaptıkları bir çalışmada IAA ürettikleri belirlenen *Acinetobacter* spp. *Pseudomonas* sp. ve *Pseudomonas corrugata* strainlerinin arpa tohumlarına inokülasyonu ile arpada IAA ve ACC deaminaz birikiminin artması sonucu kök ve gövde uzunluğu, biyokütle ve fizyolojik parametrelerde artışın hormon kaynaklı olarak tetiklendiğini bildirmişlerdir.

Christian Suarez vd. (2015), tuz stresi altındaki *H. vulgare* bitkisine *Hartmannibacter diazotrophicus* E19T izolatının aşılmasıyla kök (%308) ve sürgün (%189) kuru ağırlığını önemli ölçüde arttırırken kökler tarafından Na^{+} iyon alımını azaltmıştır. Diğer yandan büyüme ve gelişimini ACC deaminaz aktivitesi ile arttırdığını bildirmişlerdir.

Cardinale vd. (2015), tuzlu topraklarda yetişen bitkilerin kök rizosferinden izole edilen *Microbacterium natoriense* *P. brassicacearum*, *Curtobacterium flaccumfaciens* bakterilerinin tuz stresi altındaki *H. vulgare* bitkisine inokülasyonu ile bitki büyümesinin %300 arttığını özellikle bu artışın *C. flaccumfaciens* izolatının IAA aktivitesini arttırarak daha çok katkı sağladığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde *Hartmannibacter diazotrophicus* E19T izolatı ile *H. vulgare* bitkisine inokülasyonu ile yaptıkları bir çalışmada, kök (%308) ve gövde (%189) kuru ağırlığını arttırdığı bildirilmiştir (Suarez vd., (2015).

Kasım vd. (2016), tuz stresi (0, 150, 200, 250 ve 350 mM NaCl) altındaki hassas ve dayanıklı *H. vulgare* çeşitlerine *B. amyloliquefaciens* ve *B. cereus* izolatlarının aşılmasıyla, biyofilm aktivitesinin en yüksek olduğu *B. amyloliquefaciens* izolatının fide uzunluğunu, yaş ve kuru ağırlığını hassas çeşitte arttırdığını ve tuzun etki ettiği hasarı azalttığını bildirmişlerdir. Bu bağlamda arpa büyümesindeki tuz stresinin etkilerini önemli ölçüde iyileştirdiğini ve bu iyileştirmeyi PGPR'nin indüklediği tuz toleransı ile tuza duyarlı çeşitte sağladığını bildirmişlerdir.

Azadikhah vd. (2019), tuz stresi altında (50, 100 ve 150 mM NaCl) *H. vulgare* çeşitlerine ACC deaminaz üreten PGPR strainleri ile aşılamanın bitki boyu, başak uzunluğu, ağırlığı ve sayısı, sap uzunluğu, başakta tane sayısı, 1000 tane ağırlığı gibi arpa çeşitlerinin büyüme parametreleri ve verimi üzerindeki iyileştirici etkisinin olumlu olduğunu bildirmişlerdir.

PGPR ile aşılama, bitkilerin tuz stresinin olumsuz etkilerine karşı mücadele etmesinde ABA ve JA gibi fitohormonların tuz toleransı ile ilgili gen ifadelerini arttırabilir. Bu bağlamda, Zaib vd. (2020) yaptıkları bir çalışmada, tuz stresi altındaki *H. vulgare* bitkisine *Pseudomonas fluorescens* ve *P. putida*'ın aşılama ile ilgili (NCED, DHN5, DRF1 ve WRKY18) genlerin aşağı regüle edildiğini ve inoküle edilmemiş arpa bitkisinde ise P5CS1 ve DHN1 genlerinin yukarı regüle edildiğini bildirmişlerdir. Ek olarak JA genleri (FAD3, LOX1, AOS, AOC, OPR3, PLD α 1), etilen genleri (ACCO ve ACCS) ve SA biyosentez genleri (MAPKK)'nin tuza dayanıklı olan PGPR'ler ile inoküle edilen arpada yukarı regüle edildiğini bildirmişlerdir.

Mahmoud vd., (2020), tuz stresi altındaki (0 ve 100 mM NaCl) *H. vulgare* çeşidine IAA ve prolin üretiminin yüksek olduğu *Bacillus mojavensis*, *B. pumilus* ve *P. fluorescens* bakterilerinin inokülasyonu ile sürgün kuru ağırlıklarında sırasıyla %54 ve %46 ve kök kuru ağırlıklarında yaklaşık %40 oranında arttığını bildirmişlerdir. Diğer yandan CO₂ alımını arttırarak stoma iletkenliğini düzenlediğini kök ve gövde Na⁺ konsantrasyonlarını azalttığını, su potansiyelini iyileştirdiğini ve bu iyileştirmeyi özellikle *B. mojavensis* strain ile elde etmişlerdir.

Akhtyamova vd. (2021), tuz stresi altındaki arpa çeşitlerine (ABA eksikliği olan mutantı (Az34) ve kültür varyetesi (Steptoe) *B. subtilis* IB22 bakterisinin inokülasyonu ile her iki varyetenin bitki büyümesini arttırdığını, ABA eksikliği olan mutantta ABA genini (HvNCED2) yukarı regüle ederek tuz stresi altındaki bitkinin köklerinde ABA'yı yükselttiğini ve böylece mutant olan ABA eksikliğini kısmen iyileştirildiğini bildirmişlerdir. Bu bağlamda, tuz stresi altındaki arpa bitkilerinin büyüme ve gelişiminin iyileştirici etkisini *B. subtilis* IB22 inokülasyonu ile köklerde biriken ABA'ye bağlı gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Sayahi vd. (2022), sera koşullarında yaptıkları bir çalışmada, fosfat çözme, IAA, siderofor ve HCN ürettikleri belirlenen halotolerant bakteri strain *Siccibacter* sp. ile aşılama *H. vulgare* bitkisinde biyokütlenin, kök uzunluğunun ve klorofil içeriğini arttırarak 400 mM NaCl arpanın büyümesini desteklediğini göstermişlerdir. Ek olarak aşılama bitkilere

kıyasla daha düşük hücreler arası CO₂ içeriği ile birlikte fotosentez verimliliklerini arttırdığını prolin ve çözümler şekerlerin birikmesine neden olurken hücre hasara neden olan H₂O₂ ve MDA içeriklerini azaltarak oksidatif stresten koruduğunu bildirmişlerdir. Özetle, *Siccibacter* sp. strainin filogenetik analizler ile *S. turicensis* (%98,19) türüne benzediğini ve tuz stresi altındaki arpa bitkisinin bu PGPR aracılı tuz toleransını, HVA1, HvDREB1, HvWRKY38 gibi arpa stresine yanıt veren genlerin ifadesindeki artmasıyla desteklendiğini belirlemişlerdir.

Gupta vd. (2022), tuz stresi altındaki (200 mM NaCl) tuza dayanıklı ve tuza duyarlı iki *H. vulgare* çeşitlerine *Trichoderma harzianum* Rifai T-22 ile inokülasyonunda, klorofil içeriği sürgün ve kök kuru ağırlığı, sürgün klorofil içeriği ve kök-sürgün oranları daha yüksek olduğunu özellikle tuza daha az toleranslı arpa çeşidi Gairdner'de tuz toleransını *T. harzianum* Rifai'nin inokülasyonu ile kazandığını bildirmişlerdir.

Alharbi vd. (2023), tuzlu tarla koşullarında bir siyanobakteri cinsi olan *Arthrospira platensis* ile inoküle edilen *H. vulgare* bitkisinde toprak enzim miktarları (üreaz ve dehidrojenaz), stoma iletkenliğini, bağıl su içeriğini, klorofil içeriğini arttırdığını, Na⁺ ve K⁺ iyon oranlarının dengelediğini, H₂O₂ ve MDA miktarlarını azaltırken antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, POX) arttırarak tuz stresi altındaki arpa bitkilerinde oksidatif stresi azalttığını bildirmişlerdir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Tez araştırmasında kullanılan doğal halofit türü olan *H. marinum* Huds. tohumları, Efes Ören Yeri (Selçuk/Aydın) yakınlarından Prof. Dr. Okan ACAR tarafından toplanmıştır. Glikofit türü olan *H. vulgare* tohumları ise Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Eskişehir), Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü (Edirne) ve Bağrı Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsünden (Konya) temin edilmiştir (Tablo 4).

Tablo 4

Araştırma Enstitülerinden temin edilen *Hordeum vulgare* L. çeşitleri

Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü	Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü	Bağrı Dağdaş Tarımsal Araştırma Enstitüsü
Cumhuriyet-50	Hazar	Karatay-94
Kalaycı-97	Yaba	Larende
Erginel-90	Yaprak	Keykubat
Bilgi-91	Pınar	Ayrancı
Hamidiye-85	Bolayır	Konevi-98
İnce-04	Ocak	Kıral-97
Keser	Harman	
Sabribey	Helke	
Çıldır		
Ünver		
Güzak		
Yüksel		
Özdemir		

3.1.1. *Hordeum vulgare* L. Çeşitlerinde Tuz Toleransının Belirlenmesi

Türkiye'deki araştırma enstitülerinden temin edilen 27 adet *H. vulgare* çeşidinin tuz stresine toleransını belirlemek için Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarındaki biyotronda petri denemesi gerçekleştirilmiştir. Arpa tohumları %5 sodyum hipoklorit ile 15 dk boyunca sterilize edilmiş ve dI-H₂O'da 4-5 defa yıkanmıştır.

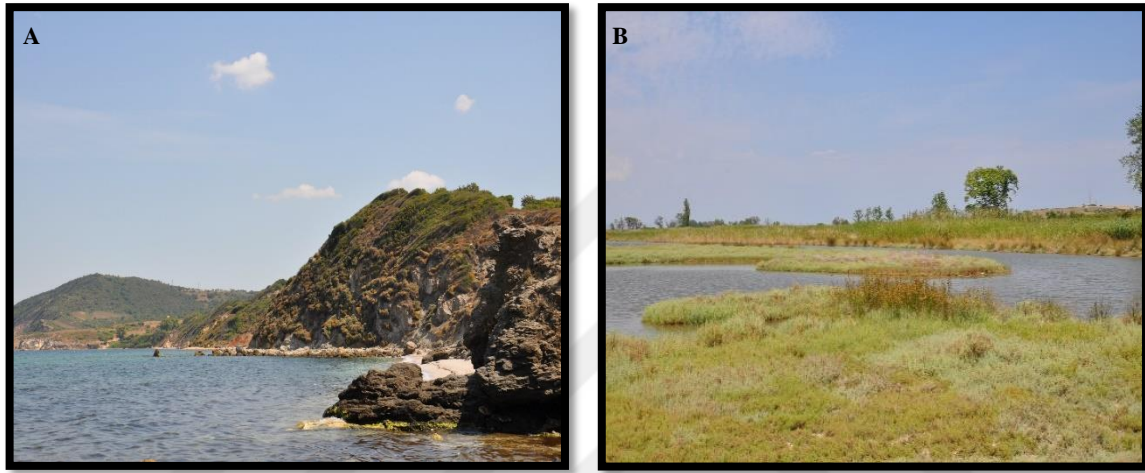
Dormansiyi kırmak amacıyla tohumlar 4°C’de 0.5 mM CaSO₄.2H₂O çözeltisi ile 3 saat karanlıkta bekletilerek petrilere ekilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanan (0, 50, 100 ve 200 mM NaCl) arpa türlerine tohum ekimini izleyen 7. günde yaprak dokuları kullanılarak çimlenme testi, toplam klorofil miktarı (SPAD), kök-gövde uzunluğu, spesifik yaprak alanı (SYA) ve histokimyasal boyama ile süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit miktarları belirlenmiştir. Fizyolojik ve biyokimyasal parametreler değerlendirilerek tuz stresine toleranslı (Kıral-97, Harman, Ocak, Yaprak, Yaba) ve duyarlı (Larende, Cumhuriyet-50, Kalaycı-97, Çıldır, İnce-04) olmak üzere toplam 27 çeşit içerisinde 10 aday çeşit belirlenmiştir.

Bu aşamada 10 aday *H. vulgare* çeşidinin saksı denemesi biyotronunda (16 saat ışık/8 saat karanlık 22°C’de nem oranı %70) perlit içeren saksılarda 25 fide/saksı olacak şekilde Hoagland besin solüsyonu (Hoagland and Arnon, 1950) ile sulanarak yetiştirilmişlerdir. 21 günlük fidelere 14 gün uygulanan tuz stresi sonucunda örnekleme yapılarak, bu örneklerde kök-gövde uzunluğu, biyokütle, pigment içeriği, SYA, bağıl su içeriği (BSİ), lipid peroksidasyon (TBARS) miktarı, H₂O₂ birikimini histokimyasal boyama yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde bu 10 çeşit içerisinde tuz stresine en dayanıklı (*H. vulgare* cv. Ocak) ve en duyarlı (*H. vulgare* cv. İnce-04) iki çeşit tez araştırması için seçilmiştir.

3.2. Denizel Habitattan Toprak Örneklerinin Alınması

Çanakkale Boğazının Marmara Denizine açılan kuzey kesiminde yer alan Lapseki ilçesi kıyı zonu ve Lapseki-Çardak lagün sahil zonundan yerleşim alanlarından uzak kıyılarda 27-28 Temmuz 2020 tarihlerinde iki arazi çalışması gerçekleştirilmiştir (Şekil 9). Çalışmada kullanılacak olan izolatların elde edilmesi için, rastgele örnekleme ile 0-20 cm derinlikten bitki rizosfer toprak örnekleri alınmıştır (Şekil 10). Yaklaşık 1 kg alınan toprak örnekleri kese kağıtlarına konularak numaralandırılmıştır ve analize alınmaya kadar 4 °C’de muhafaza edilmiştir. Toplanan bitkiler herbaryum tekniklerine göre arazide numaralandırılıp teşhis için laboratuvara getirilmiştir. Çalışma kapsamında toplanan halofit bitki örneklerinin tür teşhisleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ersin KARABACAK tarafından yapılmıştır. Bitkinin alındığı tarih, saat ve konum (GPS) bilgileri kaydedilmiştir (Tablo 5, Şekil 11). Toprak örneklerinin tuz derecesi

arazi tipi EC metre (Elektriksel Kondüktivite) yardımıyla işlem sırasında ölçülmüş ve not edilmiştir. Tez çalışması kapsamında farklı alanlardan toplanan halofitik türlerden en yüksek EC değerine sahip iki tür seçilmiştir (Tablo 6). Bu değerlendirilmeler sonunda Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün'den toplanan toprak örneklerinin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerinin analizleri ÇOMÜ Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezine (ÇOBİLTUM) yaptırılmıştır (Tablo 7).



Şekil 9. Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu (A) ve Çardak Lagün sahil zonu (B) (27-28 Temmuz 2020).

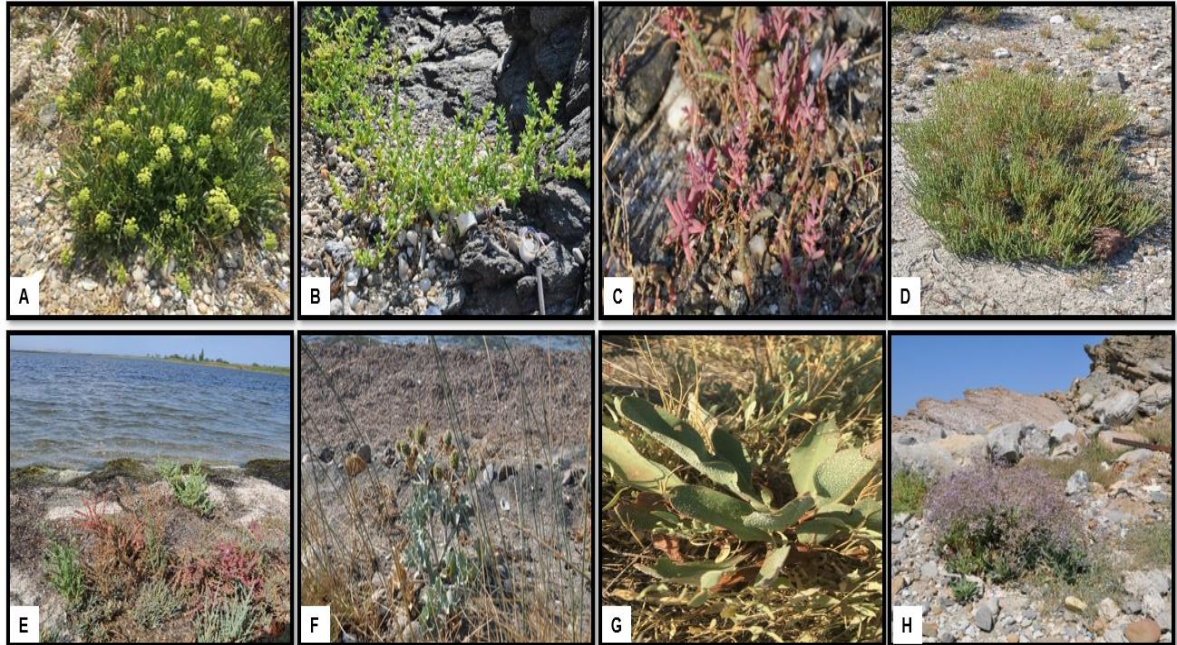
Tablo 5

Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün lokasyon bilgisi

İstasyon No	Toplanma Bölgesi	Lokasyon Bilgisi
1	Çardak lagün	K40°39'31" D26°73'68"
2	Lapseki kıyı zonu	K40°39'29" D26°92'90"



Şekil 10. Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün sahil zonundan toprak örneği alınması.



Şekil 11. Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagün sahil zonundan toplanan bitki türleri (A: *Crithmum maritimum* L., B: *Salsola kali*, C: *Arthrocnemum macrostachyum*, D: *Halocnemum strobilaceum*, E: *Limonium* sp., F: *Eryngium maritimum* L., G: *Sueda prostrata*, H: *Limonium* sp.).

Tablo 6

Denizel habitatlardan toplanan bitkilerin kök rizosferindeki toprakların tuzluluk ($\mu\text{S/cm}$) değerleri

Bitki Materyali	EC değeri ($\mu\text{S/cm}$)
1- <i>Limonium</i> sp.	235
2- <i>Crithmum maritimum</i> L.	991
3- <i>Salsola kali</i>	1811
4- <i>Limonium</i> sp.	2391
5- <i>Halocnemum strobilaceum</i>	4276
6- <i>Arthrocnemum macrostachyum</i>	4372
7- <i>Sueda prostrata</i>	5215
8- <i>Eryngium maritimum</i> L.	5324

Tablo 7

Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagünü'nden toplanan toprak örneklerinin fiziksel ve biyokimyasal özellikleri

Bitki Örneği	Bölge	Derinlik (cm)	İşba (%)	EC (mS/cm)	pH	Kireç (%)	Organik madde (%)	Fosfor (P) mg.kg ⁻¹	Potasyum (K) mg.kg ⁻¹
<i>Arthrocnemum macrostachyum</i> (Mor.) K.Koch.	Lapseki Kıyı Zonu	0-30	56,1	0,714	7,35	0,4	1,99	3,65	0
			Killi-Tınlı	Tuzsuz	Nötr	Az kireçli	Az	Az	Çok az
<i>Eryngium maritimum</i> L.	Çardak Lagün	0-30	53,9	0,677	7,15	0,8	2,32	3,5	0
			Killi-Tınlı	Tuzsuz	Nötr	Az kireçli	Orta	Az	Çok az

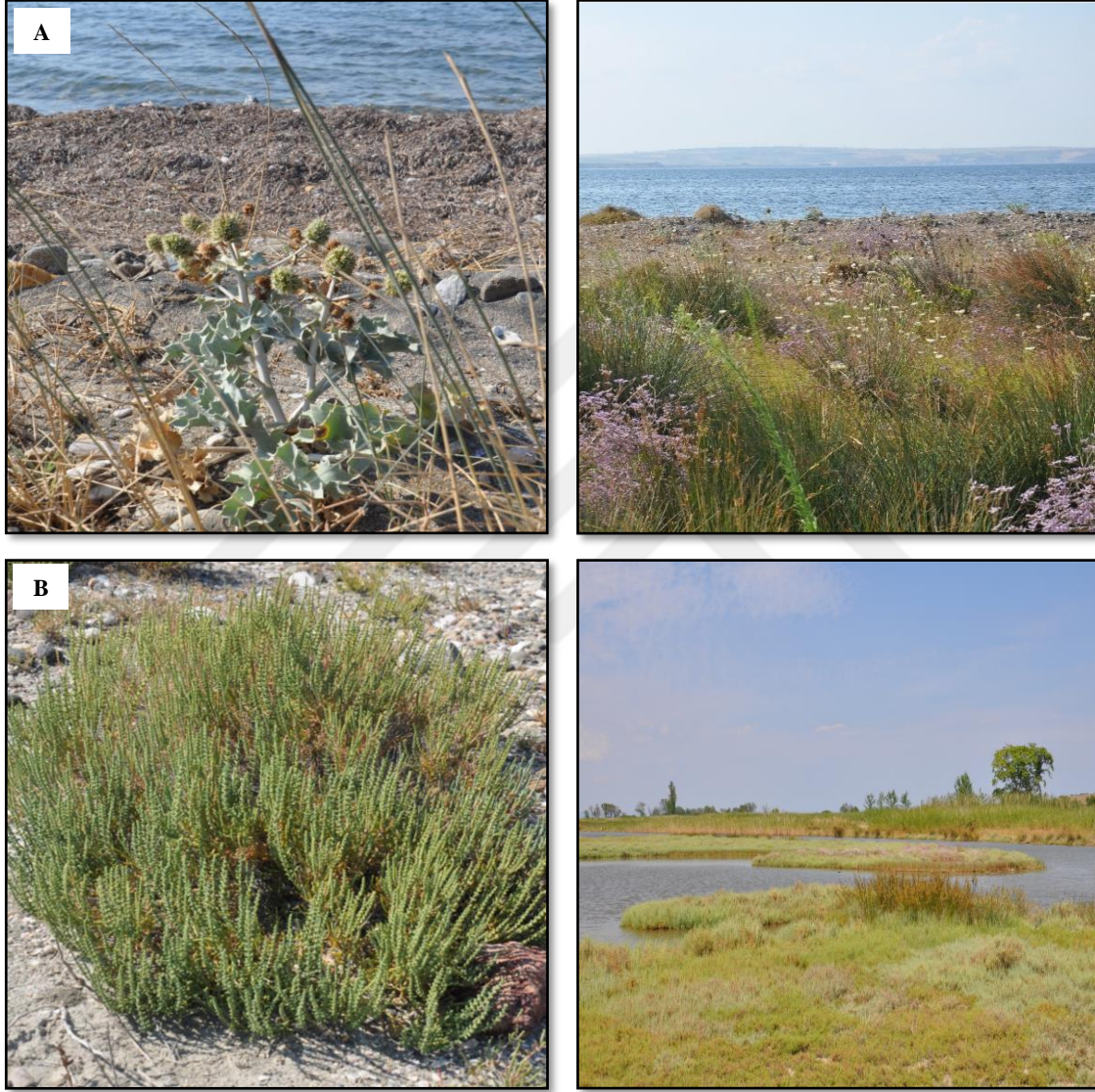
Not: 3.65 mg.kg⁻¹ P yaklaşık =2.1 kg/da P₂O₅, 0 mg.kg⁻¹ K yaklaşık =0 kg/da K₂O, 3.5 mg.kg⁻¹ yaklaşık =2 P kg/da P₂O₅, 0 mg.kg⁻¹ K yaklaşık =0 kg/da K₂O.

3.2.1 Bakteri İzolasyonunda Kullanılan Bitkiler

Araştırmada kullanılan biyolojik materyal, Çanakkale Boğazının Marmara Denizine açılan kuzey kesiminde yer alan Çardak sahil zonunda yetişen *Eryngium maritimum* L. bitkisidir (Şekil 12). *Apiaceae* ailesinden “Boğa diken, Göz diken” olarak da bilinen *E. maritimum* ve donuk mavi-yeşil renkli ve çok yıllık bir bitki olup, yaklaşık 20-35 cm'ye kadar boylanabilen kalın, çizgili ve dallanmış bir gövdeye sahiptir. Yaprakları kalın, dairemsidir, diken uçlu ve çiçekleri panikulat formundadır. Deniz seviyesinde ve kumda yetişir (Elkiran vd., 2023).

Arthrocnemum macrostachyum bitkisi *Amaranthaceae* ailesinden çiçekli bir bitki türüdür (Şekil 12). Akdeniz'in ve Kızıldeniz'in kıyı bölgelerine ve Orta Doğu'nun bazı bölgelerine özgüdür ve kıyı iç kısımlardaki tuzlu bataklıklarda, alkali düzlüklerde ve tuzlu

habitatlarda yetişir. *A. macrostachyum* 1 m yüksekliğe kadar öbekler halinde büyüyen çok dallı bir çalıdır. Bitkiler, boğumlarda köklenebilen, dik, eklemli, etli yeşil gövdelere dallanan yatay odunsu gövdelere sahiptir. Yapraklar küçük ve pul şeklinde, çiçekler küçük, terminalde üçlü, silindirik sivri uçludur (El Naker vd., 2020).



Şekil 12. Çanakkale ili kıyı habitatından toplanan halofit bitki türleri ve alanları (A: *E. maritimum* L. ve B: *A. macrostachyum* (Moric.) K.Koch.).

3.2.2. Halofit Bitki Topraklarından Bakteri İzolasyonu ve Safılaştırılması

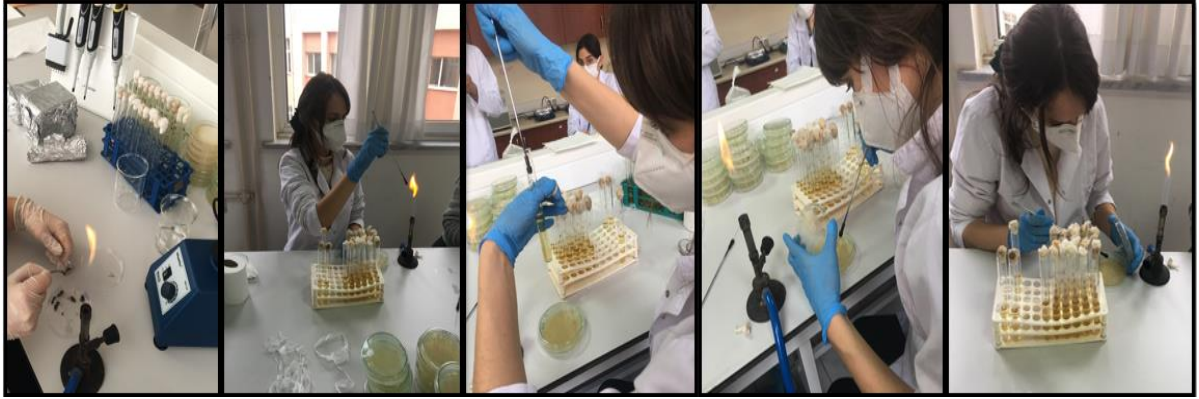
Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagünü'nden alınan toprak örneklerinden, rizosfer bakteri izolasyonu halofil besiyeri kullanılarak yapılmıştır (Tablo 8) (Tindall, 1991).

10g toprak örneği 90 mL serum fizyolojik ile karıştırılıp stok çözelti hazırlanmıştır. Elde edilen stoktan 1 mL çekilip yine serum fizyolojikle hazırlanan birden fazla dilüsyon yöntemi ile 10^{-8} konsantrasyonlarına kadar seyreltilmiştir. Tablo 8’de verilen farklı halofil besiyerlerinde en iyi gelişim gözlenen besiyeri izolasyon için seçilmiştir. Toprak örnekleri halofilik besiyerlerindeki seyreltmelerden sonra 0.1 mL tüplerden kullanılarak katı halofil besiyeri içeren petri kaplarına aktarıldı ve yayma plaka yöntemine göre ekimler yapılmıştır. Bu seri seyreltmelerden sonra 1 mL alınarak triptik soy broth agar (TSB Agar) kültür ortamı içeren petri kaplarına aşılanmıştır (Ottow, 1984). Tüm petri kapları kod verilerek 25°C’de 7 gün inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon periyodu boyunca bakterilerin gelişimleri takip edilmiştir. İnkübasyondan sonra binoküler lup altında farklı renk ve morfolojide mikroorganizmalar incelenmiştir. Her bir petride çoğalma gösteren bakteri örnekleri steril öze yardımıyla alınarak ve tekrar farklı halofil besiyeri içeren petrilere yayma ekim yapılarak saflaştırılması sağlanmıştır (Şekil 13). Farklı morfolojik yapıya sahip koloniler seçilmiş ve saflaştırma işlemi gerçekleştirilerek ve 60 adet izolat elde edilmiştir (Tablo 9 ve Şekil 14). Çalışmalardan elde edilen 60 izolatın morfolojik ve biyokimyasal analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm morfolojik ve biyokimyasal analizler sonucu en son 300 mM halofil besiyerine tekrar ekimi gerçekleştirilerek en fazla üreme olan 6 adet izolat seçilerek arpa tohumlarına inokülasyon denemeleri gerçekleştirilmiştir (Tablo 9). Elde edilen saf kültürler içerisinde 5 mL halofil besiyeri içeren yatık agarlı tüplere ekim yapılarak kısa süreli stoklar 4 °C’de, uzun süreli stoklar ise (%20’lik gliserol) -20°C’de saklanmıştır.

Tablo 8

Farklı halofil besiyerleri

Besiyeri İçeriği	Tuzsuz	Halofil I	Halofil II	Halofil III	Halofil IV
KCl	2 g/L	2 g/L	2 g/L	2 g/L	2 g/L
NaCl	0 g/L	4.383 g/L	8.766 g/L	14.61 g/L	100 g/L
MgSO ₄ .7H ₂ O	20 g/L	20 g/L	20 g/L	20 g/L	20 g/L
tri-Na sitrat	3 g/L	3 g/L	3 g/L	3 g/L	3 g/L
CaCl ₂	1.5 g/L	1.5 g/L	1.5 g/L	1.5 g/L	1.5 g/L
Maya özütü	10 g/L	10 g/L	10 g/L	10 g/L	10 g/L
Kazein hidrolizatı	7.5 g/L	7.5 g/L	7.5 g/L	7.5 g/L	7.5 g/L
FeCl ₂ .4H ₂ O	36 mg/L	36 mg/L	36 mg/L	36 mg/L	36 mg/L
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.36 mg/L	0.36 mg/L	0.36 mg/L	0.36 mg/L	0.36 mg/L
Su	1000	1000	1000	1000	1000
Agar	20 g/L	20 g/L	20 g/L	20 g/L	20 g/L
NaCl (mM)	0 Mm	75 mM	150 mM	250 mM	300 mM



Şekil 13. Toprak örneklerinin ekimlerinin katı halofil besiyeri yayma plaka yöntemine göre yapılışı.

Tablo 9

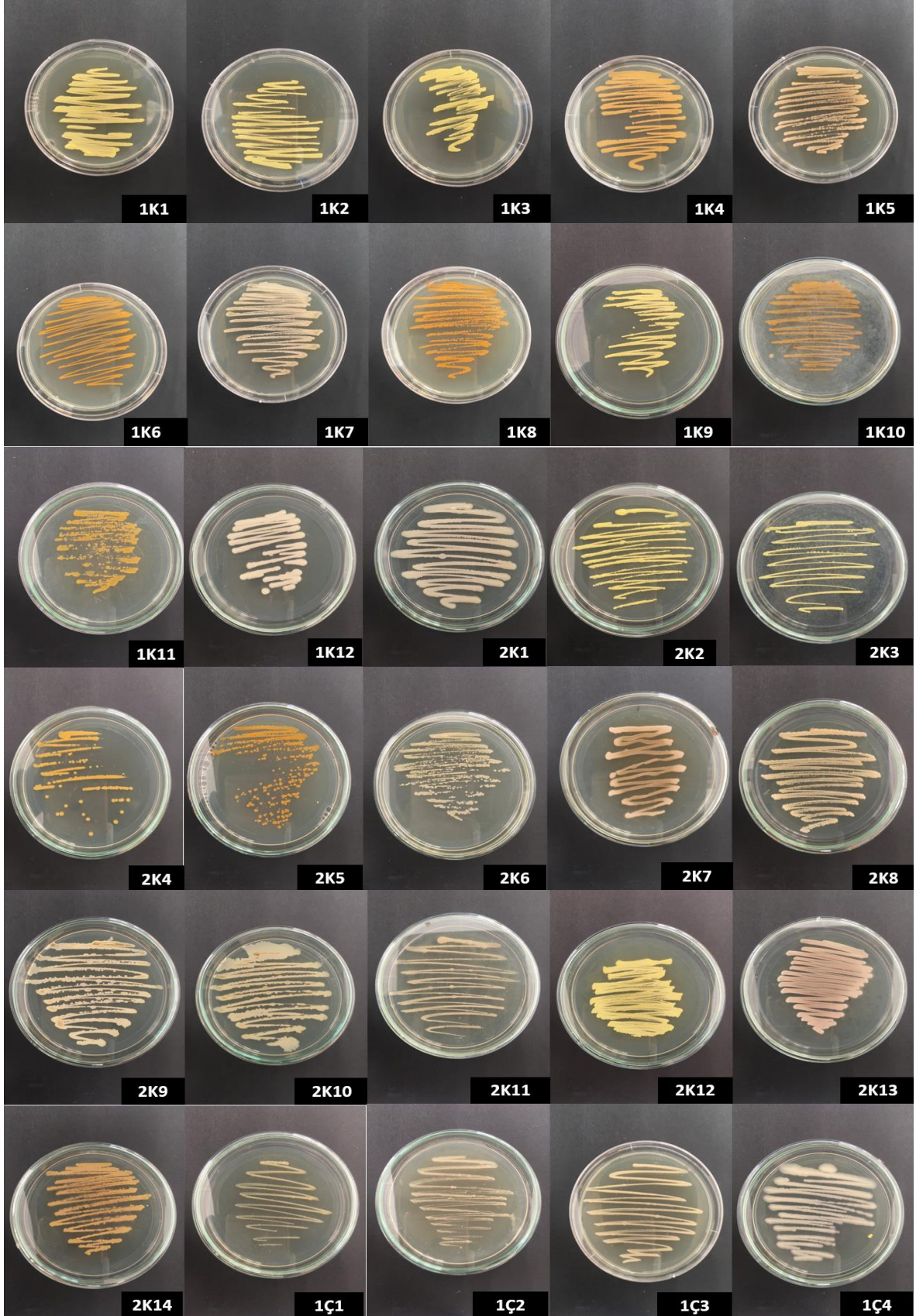
Bakteri izolatları ve izole edildikleri bölgeler

Kod	Besiyeri	Toprak Örneği Lokasyon	Konukçu Bitki
1Ç1 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç2 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç2 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç4 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1K4	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K8	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K9	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2Ç3 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç4 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç6 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç7 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç7 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç8 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2K1 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K1 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K10 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K10 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K11 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K12	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K12 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K13	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K14	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K2 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K2 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K3 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K6 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K7	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K8 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>

Tablo 9'un devamı

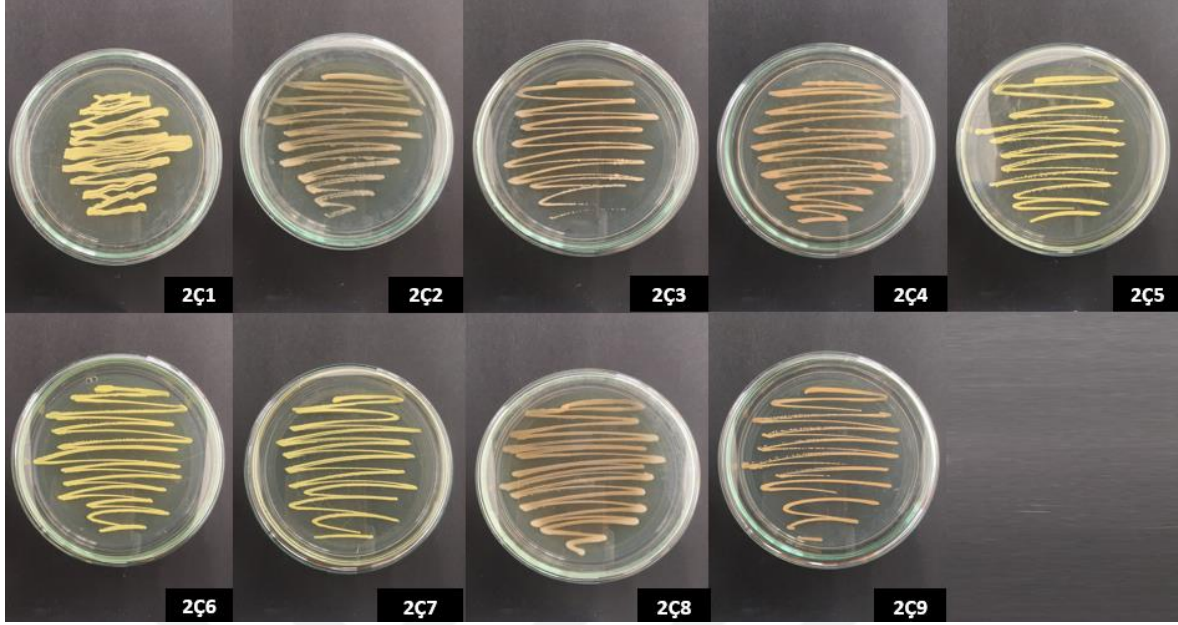
Kod	Besiyeri	Toprak Örneği Lokasyon	Konukçu Bitki
2K8 T2	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1Ç1 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç3 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç3 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1Ç4 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
1K1	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K10	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K11 T1	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K2	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K3	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K3	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K5	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K6	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
1K7	Halofil-I	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2Ç1 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç2 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç2T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç3 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç4 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç5 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç5 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç6 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç8 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç9 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2Ç9 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	<i>Eryngium maritimum</i>
2K11 T2	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K3 T1	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K4 T1	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K4 T2	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K5 T1	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K6 T1	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>
2K9	Halofil-II	Lapseki-K1y1 Zonu	<i>Arthrocnemum macrostachyum</i>

(1 ve 2: Halofil besiyeri kodu, K: Lapseki K1y1 Zonu, Ç: Çardak Lagün)



Şekil 14. İzolatların farklı halofil besiyerinde koloni morfolojileri.

Şekil 14' ün devamı



Şekil 14. İzolatların farklı halofil besiyerinde koloni morfolojileri.

3.3. Bakterilerin Morfolojik ve Biyokimyasal Karakterizasyonu

3.3.1. Gram Boyama

Bakteri izolatları saf kültür olarak elde edildikten sonra hücre morfolojilerindeki farklılığı belirlemek için gram boyama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. İzolatların gram boyama analizi Bozkurt (2016)'ın belirlediği yöntem uygulanarak belirlenmiştir. Bu analiz yöntemi uygulandıktan sonra, havada kurutularak immersiyon yağı ile 100 X'lik objektifte, ışık mikroskobu ile incelenerek not alınmıştır. Koyu mor yani menekşe renkli olan mikroorganizmalar Gram (+), açık pembe renkli olanlar ise Gram (-) olarak tanımlanmıştır.

3.3.2. Oksidaz Testi

Oksidaz testi için bakteriler Nutrient Agar besi ortamlarında 24 saatlik gelişim aşamasında, kolonilerin üzerine %1'lik tetrametil-p-fenilendiamin damlatılarak ve mavi renk veren koloniler pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir (Holt vd., 1994).

3.3.3. Katalaz Testi

Katalaz testi için bakteri izolatları besi ortamlarında 24 saatlik gelişimlerinin ardından 35 °C'de 24 saat inkübe edilerek bu kültürler üzerine %3 H₂O₂ damlatılarak gaz kabarcıklarının çıkışı olan kültürler için test pozitif, gaz kabarcığı görülmeyen kültürler için ise test negatif olarak kabul edilmiştir (Bozkurt, 2016).

3.3.4. İndol Testi

Bakteri izolatlarından öze yardımıyla alınan ve tüp içinde triptofan bulunan bir sıvı besiyerine ekim yapılarak belirlenmiştir. Tüpler etüvde, 37°C'de 1-5 gün inkübasyona bırakıldıktan sonra üzerine 0.5 mL kovaks ayırıcı ilave ederek tüp çalkalanmıştır. Renk değişimi olması ve 1-2 dk içinde besiyerinin üst kısmında, parlak kırmızı bir halka oluşması, testin pozitif olduğunu (indol oluşumu), sarı tonlarında bir halka ise testin negatif olduğunu (indol oluşmadığını) göstermiştir (Bozkurt, 2016).

3.3.5. Sitrat Testi

Bakteri izolatlarından iğne öze ile alınarak tüp içindeki Simon's Sitrat Yatık Agar besiyerinin yüzeyine ekim yapılarak belirlenmiştir. Tüpler etüvde, 37°C'de 2-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda, orijinal rengi yeşil olan ve indikatör olarak %0.2'lik Bromo timol mavisi kullanılan besiyerinde, besiyerinin rengi maviye dönüşür ve pozitif olarak değerlendirilmiştir (Bozkurt, 2016).

3.3.6. Voges-Proskauer (VP) Testi

Bakteri izolatlarından öze ile alınarak tüp içindeki MR-VP Broth besiyerine ekim yapılarak belirlenmiştir. Tüpler etüvde, 37°C'de 1-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra üzerine, 1 mL %40'luk KOH, daha sonra 3 mL %5'lik alfa naftol ilave edilerek ve karıştırılmıştır. Besiyerinin hava ile temas etmesi için kuvvetli çalkalandıktan sonra 2-5 dk içinde pembe-kırmızı renk oluşması testin pozitif olduğunu göstermektedir (Bozkurt, 2016).

3.3.7. Hidrojen Sülfid Testi

Bakteri izolatlarından iğne öze ile alınarak Triple Sugar Iron (TSI) yatık agarlı tüpe dikine ve dibine batırılarak ekim yapılmıştır ayrıca daha sonra yatık olan yüzeye zigzag şeklinde çizilmiştir. Daha sonra 37°C’de 3 gün inkübe edilmiştir. İnokülasyon çizgisi boyunca siyahlaşma H₂S varlığını göstermektedir. Bu durum bazı mikroorganizmaların kükürt içeren aminoasitleri parçalayarak oluşturdukları H₂S’in ortamdaki ağır metal tuzlarıyla siyah metal sülfürleriyle oluşturmasından ileri gelmektedir (Bozkurt, 2016).

3.3.8. Fenol Testi (Karbonhidrat Fermentasyon Testi)

Bakterilerin fenol testi için izolatlardan öze ile alınarak içinde durham tüpü bulunan Fenol Redli Laktoz Broth tüplerine aşılama yapılarak 37°C’de 3 gün inkübe edilmiştir. Besiyerinde nutrient broth içerisinde %0,5 laktoz fenol indikatörü vardır. Bakteriler laktozu kullanırsa asit oluşumu olur ve indikatörün rengi kırmızıdan sarıya döner (Bozkurt, 2016).

3.3.9. Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

Antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesi için disk difüzyon testi ile (Bauer vd., 1966) Mueller Hinton Agar (MHA) kullanılarak belirlenmiştir. Hazırlanan MHA besiyerine 35°C’de 24-48 saat inkübasyon süresi sonunda izolatların duyarlı (S), orta derecede duyarlı (I) ve dirençli (R) şeklinde duyarlılık profilleri ortaya konmuştur (CLSI, 2020). Bunlar için Novobiyosin (NV, 5 µg), eritromisin (E, 15 µg), streptomisin (S, 10 µg), basitrasin (B, 0, 04 U), penisilin G (P, 10 IU), ampisilin (AM, 10 µg), tetrasiklin (TE, 30 µg), kloramfenikol (C30, 30µg) ve vankomisin (VAN30, 30µg) antibiyotikleri kullanılmıştır (Montalvo-Rodriguez vd., 1997).

3.3.10. Bakterilerin Tuz Tolerans Kapasitelerinin Belirlenmesi

Bakterilerin farklı tuz konsantrasyonları %1 (0.172 M); %2,5 (0.43 M); %5,0 (0.86 M); % 7,5 (1.29 M); %10,0 (1.72 M); ve %11,62 (2 M) içeren Nutrient Agar ortamlarına ekimler yapılarak belirlenmiştir. $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 2 günlük inkübasyonun sonucunda plak üzerindeki üremeler pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Olur, 2021).

3.4. Bakterilerin PGPR Olma Özelliklerinin Belirlenmesi

3.4.1. ACC Deaminaz Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Bakterilerin ACC (1-aminosiklopropan-1-karboksilat) deaminaz enzim aktivitesinin olup olmadığını belirlemek amacıyla, ACC bulunan DF (Dworkin-Foster) özel katı besiyerine ekimleri yapılmıştır (Dworkin ve Foster, 1958). Öncelikle bakteriler, halofil besiyerine ekilerek ve 27°C 'de 24 ile 48 saat aralığında inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra 30 mL steril su içerisinde 100 mg ACC çözülüp, steril filtreden geçirilerek besiyerine eklenmiştir. Halofil besiyerinde gelişim gösteren bakteriler steril öze ile alınarak hazırlanan DF Salt besiyerine ekimi yapılmıştır. 7-10 gün inkübasyon süresi sonunda bakteri gelişimi belirlenen gruplar ACC deaminaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Shahzad vd., 2013).

3.4.2. Azot Fiksasyonu Yapan Bakterilerin Belirlenmesi

Bakteri izolatların azotsuz ortamda yaşama becerilerini belirlemek amacıyla azot fiksasyon yeteneklerinin olup olmadığı belirlenmiştir. Bu amaç için azotsuz besiyeri hazırlanarak 121°C 'de 15 dk otoklavda steril edilmiştir. Otoklav sonrası 45°C 'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Han vd., 2005). Stok kültürden alınan bakteriler NA besiyerine çizgi ekimle 2-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda gelişen koloniler azotsuz besiyeri ortamına inoküle edilerek 7-10 gün süreyle $25-27^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Azotsuz ortamda gelişim gösterebilen bakteriler azot fiksasyonu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.4.3. Bakterilerin Fosfor Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Bakterilerin fosfor çözme kapasiteleri, Mehta ve Nautiyal (2001) tarafından tanımlanan protokole göre belirlenmiştir. İzolatlar, öncelikle NBRIP (National Botanical Research Institute's Phosphate) sıvı besi ortamında ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$; 5 g, $MgSO_4 \cdot H_2O$; 0,25 g, KCl; 0,2 g, $(NH_4)_2SO_4$; 0,1 g, $Ca_3(PO_4)_2$; 5 g Glukoz 10 g Bromophenol blue 0,025 g Agar 15 g distile su 1000 mL, sterilizasyon 121 °C'de 15 dk) 3 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda izolatlar, $Ca_3(PO_4)_2$ ve pH indikatörü olarak brom fenol mavisi içeren NBRIP katı besi ortamına 10 µL inoküle edilip nokta ekim yapılarak 30°C de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda bakterilerin etrafında oluşan şeffaf zonlar pozitif sonuç olarak kabul edilmiş ve fosfor çözme katsayıları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Perez vd., 2007).

Fosfor Çözme Katsayısı = Şeffaf zon çapı / Bakteri kolonisinin çapı

3.4.4. Bakterilerin Potasyum Çözme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Bakterilerin potasyum çözme kapasiteleri, Aleksandrov besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. Aleksandrov besi ortamına izolatlar nokta ekim yöntemi ile ekilecek ve 28±2°C'de 3 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakterilerin etrafında oluşan şeffaf zonlar, pozitif sonuç olarak kabul edilerek ve Khanderparkar's oranına göre hesaplamalar gerçekleştirilmiştir (Parmar ve Sindhu, 2013).

Khanderparkar's oranı = şeffaf zon çapı / koloni çapı

3.4.5. Bakterilerin İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Kapasitelerinin Belirlenmesi

Bakterilerin IAA üretim miktarlarının belirlenmesi için ilk aşamada; %0,1 triptofan içeren nutrient broth ortamında, 150 rpm çalkalama hızında, 28±2 °C' de 7 gün inkübe edilen kültürler, 10.000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemine tabi tutularak ve oluşan üst sıvıdan 2 mL alınmıştır. Bu üst sıvı 2 damla ortofosforik asit ve 4 mL Salkowski ayırıcı eklenerek karıştırılarak ve 30 dk karanlık bir ortamda renk değişimi gözlemlenmiştir. UV spektrofotometrede (Thermo Scientific Genesys 10S VIS) 530 nm dalga boyunda yapılan okumalar sonucu standart eğri çizilerek IAA miktarları belirlenmiştir (Gang vd., 2019).

3.4.6. Siderofor Üretimini Belirlenmesi

Bakterilerin siderofor üretme kapasitelerinin belirlenmesi için, Schwyn ve Neilands (1987) tarafından önerilen Modifiye Chrome Azurol S agar kullanılmıştır. İzolatlar besiyerine nokta ekim yapılarak ve $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 4 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakterilerin etrafında oluşan sarı-turuncu renk pozitif sonuç olarak değerlendirilerek ve oluşan zon çapı (mm) ölçülmüştür (Schwyn ve Neilands, 1987).

3.5. PGPR'lerin Moleküler Tanımlanması

Bakteri izolatların moleküler tanımlanması için Nutrient Broth (NB) ortamına inkübe edilen izolatların, Genomik DNA izolasyonunda GeneJET Genomic DNA Purification Kiti (K0721, Thermo Scientific) kullanılarak DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. 16S rDNA geninin analizi için literatür taraması sonucunda en yüksek verimliliğe sahip olduğu düşünülen primer çiftinin sentezi Sentegen Primer 50 nM olacak şekilde yapılmıştır (Tablo 10). Tür düzeyinde tanımlama için kullanılacak olan 16S rDNA gen bölgesinin çoğaltımında kullanılan PCR bileşenleri laboratuvarda yapılan optimizasyon çalışması sonucunda belirlenmiştir (Tablo 11). Belirlenen bu koşullar ile tüm izolatların 16S rDNA gen bölgesinin çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. PCR ürünlerinin varlığı, %2'lik agaroz jelde kontrol edilmiş ve doğrulanması yapılmıştır. Tür düzeyinde tanımlama yapmak için kullanılmış olan 16S rDNA geninin PCR ürünleri dizi analizine gönderilmiştir. Tüm izolatlara ait 16S rDNA geninin ürünleri hizmet alımı yolu ile Medsantek Laboratuvar Malzemeleri Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. firmasında DNA dizi analizleri yaptırılmıştır. Dizileme ve Fragman Analizi Applied Biosystems marka, 8 kapilerli 3500 cihazı yardımı ile çift yönlü dizileme analizleri yaptırılmıştır. Dizi analizlerinde Sequencing Analysis Software ve Sequencing – SeqScape® Software v2.7 programları ile analizler gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi verisinin karşılaştırılması için kullanılacak olan referans diziler NCBI (National Center for Biotechnology Information) veri tabanları aracılığıyla elde edilmiştir. Tüm izolatların 16S rDNA gen dizi analizleri NCBI, BLAST'ın uygulaması ile gerçekleştirilmiş ve veri tabanlarındaki dizi benzerlik oranlarına bakılarak her izolatın genetik olarak tanımlanması

GenBank erişim numaraları ile belirlenmiştir. Filogenetik analiz için Mega Phylogenetic program kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Shukla ve Goyal 2011).

Tablo 10

16S rDNA'ya ait primer dizileri

Gen	Primerler	Sekans (5'→3')	Referans
16S rDNA	0341f 0785r	CCTACGGGGGCGCAG GACTACGGGTATCTAATCC	Klindworth vd., 2013

Tablo 11

16S rDNA'ya ait PCR bileşenleri

PCR Bileşenleri	µl/Tüp	Son Konsantrasyon
H ₂ O	17.0	-
10 X Buffer	2.5	1X
MgCl ₂ (25 mM)	2.0	2 mM
dNTP (25 mM)	0.3	0.3 mM
Primer 341F (10 pmol µl ⁻¹)	0.5	10 pmol 25µl ⁻¹
Primer 785R (10 pmol µl ⁻¹)	0.5	10 pmol 25µl ⁻¹
Taq polimeraz (5U µl ⁻¹)	0.2	1 U 25µl ⁻¹
DNA (150 ng µl ⁻¹)	2.0	300 ng 25µl ⁻¹
Toplam hacim	25.0	

3.6. Bakterilerin Arpa Türlerine İnokülasyonu

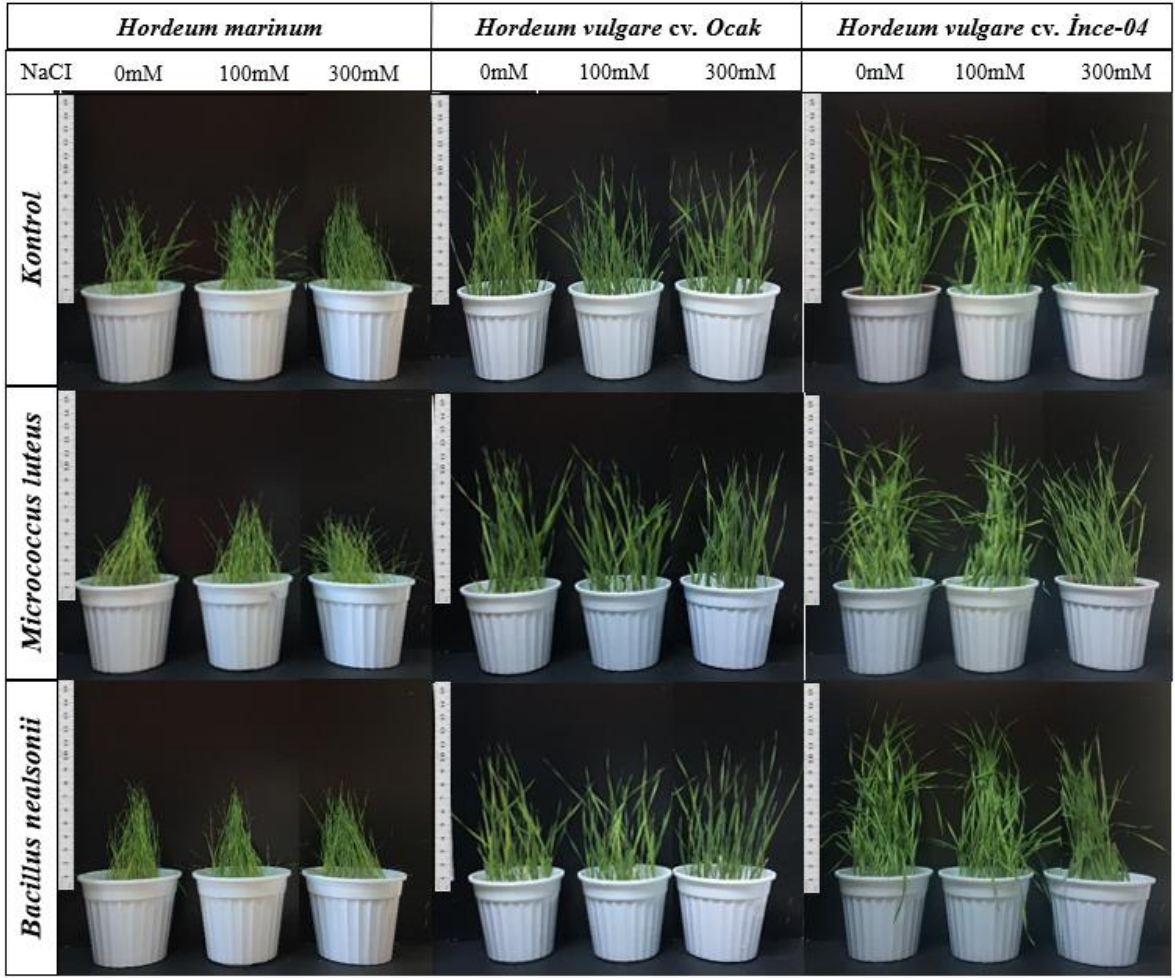
3.6.1. Bakteri İzolatların Seçimi ve İnokülasyon Denemeleri

Çanakkale ili Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagünden toplanan bitki örneklerinden izole edilen 60 adet bakteri izolatından bitki büyümesini teşvik eden kök bakterileri belirlemek amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelere geçilmeden önce toplanan bitki örneklerinden izole edilen 60 adet bakteri izolatına 100 mM ve 200 mM halofil besiyerinde zayıf gelişim gösteren gruplar ayrılarak elenmiştir. Kalan bakteriler içerisinde yüksek tuz konsantrasyonuna dayanıklı olanları belirlemek amacıyla farklı halofil besiyeri ortamında (300 mM NaCl) en fazla gelişim gösterebilen 6 bakteri izolatı (*Halomonas* sp., *Bacillus thuringiensis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus nealsonii*, *Bacillus cereus*) uygulama için seçilmiştir. Halofil besiyeri ortamında en iyi gelişim gösterebilen 6 adet bakteri izolatının arpa türlerine inokülasyonunu gerçekleştirebilmek için çok sayıda petri denemesi (30 dk, 1, 6 ve 24 saat inoküle süresi) kurularak çimlenme

yüzdeleri test edilmiştir. Denemelerde arpa türleri için en uygun tohum inokülasyon süresinin 30 dk olduğu belirlenerek saksı ön denemenin yapılmasına karar verilmiştir. Bitkiler her saksıda 25 fide olacak şekilde perlit içeren saksılarda Hoagland besin solüsyonu (Hoagland ve Arnon, 1950) ile 16/8 fotoperiyot 22°C ve 3 tekrarlı olarak bitki büyütme odasında 21 gün yetiştirilmiştir. 21 günlük fideler farklı tuz konsantrasyonlarına (0 mM, 100 mM, 200 mM ve 300 mM NaCl) maruz bırakılarak tuz stresi uygulanmıştır. PGPR potansiyeline sahip olduğu düşünülen 6 bakteri izolatu ile inoküle edilen arpa tohumlarının 7 günlük tuz stresine karşı etkilerini kök-gövde uzunluğu, SPAD, biyokütle, kuru ağırlık, toplam protein miktarı, H₂O₂, TBARS, POX ve H₂O₂ histokimyasal boyama ile belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına bağlı olarak bitki büyüme parametreleri ve biyokimyasal analizlerde tuz stresine olumlu sonuç verebilen 2 bakteri izolatu (*M. luteus* ve *B. nealsonii*) seçilmiş ve asıl deneme gerçekleştirilmiştir.

3.6.2. Tohum Sterilizasyonu, İnokülasyonu ve Bitki Büyüme Koşulları

H. marinum subsp. *marinum* Huds. tohumları %5 sodyum hipoklorit ile 15 dk sterilize edilmiş ve di-H₂O'da 4-5 defa yıkanmıştır. Tohumlarının dormansisini kırmak için, 3 saat boyunca karanlıkta 0,5 mM CaSO₄.2H₂O çözeltisi ile 4°C de bekletilmiştir. Ön denemeler ile tuz stresine dayanıklı çeşit olarak *H. vulgare* cv. Ocak ve tuz stresine duyarlı çeşit olarak *H. vulgare* cv. İnce-04 seçilmiştir. Tohumlarının yüzey sterilizasyonu %70'lik etonolde 2 dk, %1,2 sodyum hipokloritte 10 dk ve en son 10 defa saf su ile yıkanarak gerçekleştirilmiştir. Çanakkale ili kıyı zonundan izole edilen ve yüksek tuz konsantrasyonunda iyi gelişim gösterdiği için seçilen 2 bakteri izolatu (*M. luteus* ve *B. nealsonii*) 1.0×10⁸-1.5×10⁸ kob/mL konsantrasyonundaki bakteri süspansiyonu ile steril arpa tohumlarına 30 dk boyunca çalkalayıcıda inoküle edildikten sonra tohumlar kurutma kâğıdı ile karanlıkta 1 saat kurutulmuştur (Çakmakçı vd., 2007). Bioprimering yöntemi ile inoküle tohumlardan yetiştirilen 21 günlük bitkiler her saksıda 25 fide olacak şekilde perlit içeren saksılarda Hoagland besin solüsyonu ile 16/8 fotoperiyot 22°C bitki büyütme odasında 21 gün yetiştirilmiştir (Hoagland ve Arnon, 1950). Daha sonra bitkiler 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl stresine maruz bırakılarak tuz stresinin 14. günü hasat edilmişlerdir (Şekil 15).



Şekil 15. 28 günlük *Hordeum vulgare* (cv. Ocak, cv. İnce-04) ve *Hordeum marinum* türlerinde Kontrol (Bakterisiz grup), *Micrococcus luteus* (0, 100, 300 mM NaCl) ve *Bacillus nealsonii* (0, 100, 300 mM NaCl) uygulamalarının fide gelişimi üzerine etkileri.

3.7. Fizyolojik Analizler

3.7.1. Gövde-Kök Uzunluğu

Fidelerin kök bölgesine kadar olan yeşil kısım gövde uzunluğu olarak cetvel ile ölçülmüş olup kök bölgesinde cetvel ile ölçülerek kök uzunluğu olarak belirlenmiştir (cm).

3.7.2. Biyokütle

Fidelerin yaş ve kuru ağırlığı hassas terazi kullanılarak g olarak belirlenerek toplam ağırlıkları hesaplanmıştır.

3.7.3. Yaş ağırlık

Fidelerin yaş ağırlıkları her tekrardan üçer bitki örneği alınarak terazide tartılmıştır (g bitki⁻¹).

3.7.4. Kuru ağırlık

Bitkilerin kuru ağırlıkları her tekrardan alınan bitki yaprakları 70°C de 72 saat etüvde kurutularak bitki başına kuru ağırlık olarak hesaplanmıştır (g bitki⁻¹).

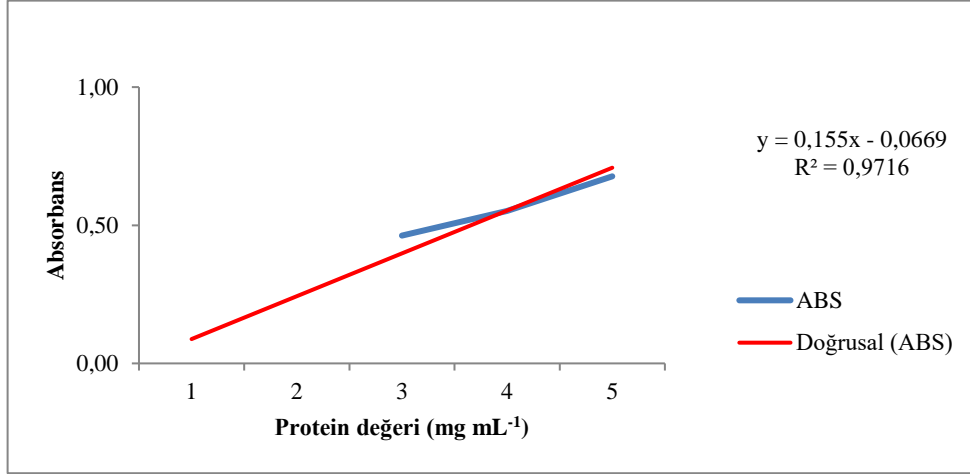
3.7.5. Reaktif Oksijen Türlerinin Histokimyasal Belirlenmesi

Yapraklar, 1 mg/ml 3',3'-diaminobenzidin (DAB) ve Nitrotetrazolium Blue (NBT) içeren çözeltiye 25°C'de 6 saat inkübe edilmiştir. Boyamaları görselleştirmek için kaynayan etanolde (%90) bekletilmiştir. Daha sonra fideler %60 gliserol ile nemlendirilmiş bir kâğıt havluya aktarılarak fotoğraflandı. DAB'ın H₂O₂ ile reaksiyonu sonucu oluşan kırmızımsı kahverengi leke H₂O₂ birikimini, NBT'nin O₂⁻ ile reaksiyona girmesi sonucu oluşan formazan bileşiğinin koyu mavi lekesi olarak tespit edilmiştir (Kumar vd., 2014).

3.8. Biyokimyasal Analizler

3.8.1. Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi

Toplam protein miktarını belirlemeden önce, 0,01– 0,10 mg mL⁻¹ aralığında protein standartı hazırlanmıştır. Bu işlem için içerisinde Bovine Serum Albumin (BSA), sodyum fosfat tamponu (pH 7,8), Coomassie Brilliant Blue G 250 (CBS), etanol, ortofosforik asit reaktif hazırlanmıştır. Spektrofotometrede 595 nm'de köre karşı absorbansları kaydedildikten sonra protein standart grafiği eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 16).



Şekil 16. BSA standart protein eğrisi (mg mL⁻¹)

Yaprak örnekleri 1 mM EDTA içeren 3ml 0,05 M sodyum fosfat tamponunda (pH 7,8) homojenize edilerek 0,1 g CBS, 50 mL etanol ve 100 mL orto-fosforik asit içeren protein reaktifi ile tüp içerisinde karıştırılmıştır. 4°C’ de 13000 rpm’de 30 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmından 100 µl supernatant alınarak ve 5 ml reaktif içinde vortekste karıştırıldıktan 5 dk ile 60 dk arasında 595 nm’ de spektrofotometrede köre karşı okunarak toplam protein miktarı (mg g⁻¹), standart grafik üzerinden hesaplanmıştır. Tüm işlemler 4°C’de gerçekleştirildi (Bradford,1976).

3.8.2. Pigment Miktarının Belirlenmesi

Pigment miktarının belirlenmesi, %80’lik aseton içerisinde 0.1 g yaprak örnekleri homojenize edildikten sonra homojenattan 663, 645 ve 480 nm’de spektrofotometrede okunarak Arnon (1949) yöntemine uyarak Denklem (3.1) ile hesaplanmıştır.

$$\text{Klorofil-a (Kl-a)} = (A_{663} \times 12.70) - (A_{645} \times 2.69) \times 10/\text{mg} \quad (3.1)$$

$$\text{Klorofil-b (Kl-b)} = (A_{645} \times 22.90) - (A_{663} \times 4.68) \times 10/\text{mg}$$

$$\text{Toplam klorofil (T-kl)} = (20.2 \times A_{645}) + (8.02 \times A_{663}) \times 10/\text{mg}$$

$$\text{Karotenoid (Kar)} = ((A_{480} + (A_{663} \times 0.114) - (A_{645} \times 0.638))/112.5) \times 10/\text{mg}$$

3.8.3. Hücre Zarı Geçirgenliği (HZG)

Yaprak örnekleri 10 mL deiyonize su içeren falkon tüpleri içerisinde su banyosuna konularak 32°C sıcaklıkta 2 saat bekletildikten sonra elektrik iletkenlik (ISOLAB pH meter EC probe) (EC₁) ölçülmüştür. Ardından 100°C'de 20 dk su banyosunda bekletilmiştir ve oda sıcaklığında soğutulduktan sonra elektrik iletkenliği (EC₂) tekrar ölçülmüştür. En son olarak deiyonize suyun elektrik iletkenliğide (EC₃) ölçülerek hücre zarı geçirgenliği Denklem (3.2) ile hesaplanmıştır (Zhang vd., 2013).

$$\text{HZG} = (\text{EC}_1 - \text{EC}_3) / (\text{EC}_2 - \text{EC}_3) \times \%100 \quad (3.2)$$

3.8.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarının Belirlenmesi

Cheeseman (2006)' ya göre 138 µL H₂SO₄ (Sülfirik asit) %100'lük soğuk aseton ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. 0,1 g örnek 3 mL ile homojenize edilerek 4000 g 5 dk santrifüjlenmiştir. 138 µL H₂SO₄ 100 mL saf su ile tamamlanarak ardından bu çözeltinin içerisinde 250 mM 0,01 g Ferrus amonium sülfat, 100 mM 0,007 g Xsenol orange, 100 mM 0,002 g sorbitol ve 1 mL ethanol eklenerek elde edilen supernatant 30 dk beklendikten sonra 550-800 nm'de polistren küvette kör olarak suya karşı okunarak hesaplanmıştır.

3.8.5. Lipit Peroksidasyon Miktarının Belirlenmesi (TBARS)

TBARS miktarı için yaprak örnekleri, trikloroasetik asit (TCA, %0.1) ile homojenize edilerek santrifüjlenmiştir. Daha sonra TCA ve tiobarbitürik asit (TBA) ile hazırlanan reaksiyon karışımına süpernatant eklenerek, sıcak su banyosunda bekletildikten sonra soğuması için buz banyosunda soğutulmuştur ve son kez santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar 532 nm ve 600 nm'de absorbansı ölçülerek TBARS miktarı hesaplanmıştır (Madhava Rao ve Stresty, 2000).

3.8.6. Katalaz Aktivitesi (CAT; EC 1.11.1.6)

CAT aktivitesi için protein süpernatantları spektrofotometre 240 nm'de okunması ile belirlenmiştir. CAT enzim ünitesi H₂O₂ (μmol) miktarının ölçülmesi ve sonucun mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Bergmeyer,1970).

3.8.7. Peroksidaz Aktivitesi (POX; EC 1.11.1.7)

POX aktivitesi, spektrofotometrede 465 nm dalga boyunda ve DAB oksidasyonu meydana gelen artış ile hesaplanmıştır. Sonuç olarak POX enzim ünitesi mg protein⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Kanner ve Kinsella,1983).

3.9. İzoenzim Profillerinin Belirlenmesi

Bitki örnekleri 0,1 mM EDTA, 10% triton X, 1 mM PMSF ve %2 PVP içeren 50 mM Tris-HCl (pH:7,8) tamponu ile homojenize edilerek santrifüjlenmiştir. Süpernatantların protein içeriği jele yüklenecek miktarın belirlenmesi için Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir. Laemmli (1970) Native-Page poliakrilamid jel yöntemi ile izoenzim profilleri belirlenerek BioCapt 11.02 programı ile jel bant alanları hesaplanmıştır.

3.9.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) İzoenzim Profili

Süpernatantların elektroforetik ayırma (separating) için %12,5 ve hizalama (stacking) için %4 oranlar kullanılmıştır. Jeller, Beauchamp ve Fridovich (1971) yöntemine göre riboflavin ve nitro blue tetrazolium (NBT) içeren SOD boyası ile 60 dk karanlıkta çalkalanarak boyanmıştır. Riboflavin'in ışık ile süperoksit anyonu (O₂⁻) üreterek NBT'yi okside etmesi ile mavi-mor renkte formazan oluşturması SOD izoenzim bantları belirlenmiştir.

3.9.2. Peroksidaz (POX) İzoenzim Profili

POX izoenzim için proteinlerin ayırımı %10 ayırma jeli ve %4 hizalama jeli kullanılmıştır. Ardından boya solüsyonu 1.3 mM DAB ve %3 H₂O₂ içeren 200 mM sodyum asetat tamponunda POX enzimlerinin bulunduğu bölgelerde DAB'ın oksitlenmesi ile kahverengi bantlar meydana gelmesi ile en son jeller %7 asetik asitte fikse edilerek bantların yoğunlukları hesaplanmıştır (Seevers vd., 1971).

3.9.3. Katalaz (CAT) İzoenzim Profili

CAT izoenzim için proteinlerin ayırımı %7,5 ayırma jeli kullanılarak CAT bantlarının boyanması için jeller 5 dk %0.01 H₂O₂ solüsyonun da bekletilerek ardından %1 FeCl₃ ve %1 K₃Fe₆ (CN) içeren boya solüsyonun da 2 dk bekletilerek boyanması sağlanmıştır. Bantların belirginleşmesinin ardından jeller deiyonize su ile yıkanmıştır (Orendi vd., 2001).

3.10. İstatistik Analizi

Bu çalışma, tesadüfi parsellere bölünmüş deneme desenine göre 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tez kapsamında tüm fizyolojik ve biyokimyasal analiz verileri SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 27 istatistik paket programında tek yönlü varyans analizi (ONE-WAY ANOVA) ile yapılmıştır. Değerler arasındaki farkların istatistiki anlamlılık düzeyi Tukey testi ile $P \leq 0.05$ standart sapma hesaplanarak grafiklere eklenmiştir. Analiz verilerinde elde edilen sonuçlar ortalama \pm standart hata olacak şekilde grafikler üzerinde sunulmuştur. Ayrıca veriler arasındaki ilişkinin yönü ve derecesi arasındaki yorumu korelasyon analizi ile gerçekleştirilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Toprak Örneklerinin Alınması ve Bakteri İzolasyonu

Çanakkale ili denizel habitatta Lapseki-kıyı zonu ve Lapseki-Çardak lagün sahil zonundan toplanan 8 adet rizosferik toprak örneğinden EC değeri en yüksek olan *E. maritimum* ve *A. macrostachyum* bitki toprakları alınarak 60 adet saf izolat elde edilmiş ve çalışmalara devam edilmiştir (Tablo 9).

4.2. Bakteri İzolatların Tanımlanması

4.2.1. Bakteri İzolatların Morfolojik ve Fizyolojik Test Sonuçları

İzolatların morfolojik karakterlerini belirlemek amacıyla farklı halofil besiyerlerindeki izolatların Gram boyama özelliklerine bakılarak, hücrelerin morfolojik yapıları belirlenmiştir. İzolatların 45 tanesinin Gram (+), 15 tanesinin Gram (-) olduğu belirlenmiştir. Çalışılan izolatların pigment (koloni rengi) bakıldığında ise 9 tanesinin krem, 3 tanesinin açık krem, 18 tanesinin sarı, 13 tanesinin turuncu, 17 tanesinin pembe olduğu belirlenmiştir. İzolatlarda morfolojik yapısı incelendiğinde ise kok ve basil olmalarına rağmen daha çok kok baskın morfotip olarak belirlenmiştir. Çalışılan 60 izolatın morfolojik sonuçları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12

İzolatların morfolojik ve fizyolojik özellikleri

Kod	Besiyeri	Toprak Örneği	Pigment	Gram Boyama	Morfoloji
1Ç1 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
1Ç2 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
1Ç2 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	-	kok
1Ç4 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	Açık krem	-	kok
1K4	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok

Tablo 12'in devamı

Kod	Besiyeri	Toprak Örneği	Pigment	Gram Boyama	Morfoloji
1K8	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
1K9	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	-	kok
2Ç3 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	-	kok
2Ç4 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	+	kok
2Ç6 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	+	kok
2Ç7 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	+	kok
2Ç7 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	-	kok
2Ç8 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
2K1 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Açık krem	+	kok
2K1 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	basil
2K10 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	basil
2K10 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	basil
2K11 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	-	kok
2K12	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	-	kok
2K12 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	-	kok
2K13	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	kok
2K14	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
2K2 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
2K2 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
2K3 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
2K6 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	kok
2K7	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	-	kok
2K8 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	basil
2K8 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	kok
1Ç1 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
1Ç3 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
1Ç3 T2	Halofil-I	Çardak-Lagün	Sarı	+	basil
1Ç4 T1	Halofil-I	Çardak-Lagün	Krem	+	basil
1K1	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
1K10	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
1K11 T1	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
1K2	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
1K3	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	-	kok

Tablo 12'in devamı

Kod	Besiyeri	Toprak Örneği	Pigment	Gram Boyama	Morfoloji
1K3	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
1K5	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	-	kok
1K6	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
1K7	Halofil-I	Lapseki-Kıyı Zonu	Açık Krem	-	kok
2Ç1 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	-	kok
2Ç2 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	+	kok
2Ç2T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	+	kok
2Ç3 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	+	kok
2Ç4 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Pembe	+	kok
2Ç5 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	+	kok
2Ç5 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	+	kok
2Ç6 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Sarı	+	kok
2Ç8 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
2Ç9 T1	Halofil-II	Çardak-Lagün	Krem	+	kok
2Ç9 T2	Halofil-II	Çardak-Lagün	Turuncu	+	kok
2K11 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	+	kok
2K3 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Sarı	+	kok
2K4 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
2K4 T2	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kok
2K5 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	-	kok
2K6 T1	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Pembe	-	kok
2K9	Halofil-II	Lapseki-Kıyı Zonu	Turuncu	+	kokobasil

(-;Gram (-), +;Gram (+))

4.2.2. Bakteri İzolatların Biyokimyasal Test Sonuçları

Çalışılan izolatların oksidaz, katalaz, indol, sitrat, fenol, VP ve H₂S test sonuçları Tablo 13'te sunulmuştur. Oksidaz testinde 34 izolat %1'lik tetrametil-p-fenilendiamin ayırıcını oksidaz enzim varlığında okside ederek mor-mavi renk oluşturup pozitif sonuç verirken 26 izolatın negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Şekil 17). Bu bağlamda hücredeki oksidaz enziminin (sitokrom c oksidaz) varlığı 34 izolatın oksijenli solunum yaptığı belirlenmiştir. İzole edilen bakterilerin 29 tanesinin katalaz testinin negatif ve 31 tanesinin ise hidrojen peroksit ile tepkimeye girerek gaz kabarcıkları oluşturması pozitif sonuç olarak

belirlenmiştir. İndol testinde ise kovaks ayırıcı eklenmesiyle triptofan amino asidini parçalayarak indol oluşumu ile 30 izolatın kırmızı halka oluşturması pozitif olarak değerlendirilirken 30 izolat ise negatif sonuç verdiği belirlenmiştir. Sitrat testinde ise karbon kaynağı olarak sitratı kullanması sonucu mavi renk oluşturan 21 izolat pozitif değerlendirilirken 39 izolatın ise yeşil renge dönüşmesi negatif olarak belirlenmiştir. Fenol testinde ise 31 izolat kırmızıdan sarıya dönerek gaz çıkışı olması pozitif ve 29 izolatta negatif sonuç belirlenmiştir. VP testinde ise KOH damlatılması ile 31 izolatın pembe kırmızı rengi vermesi pozitif sonuç olarak değerlendirilirken 29 izolatın negatif olduğu belirlenmiştir. H₂S testinde ise ferrikamonyum sitrat ile reaksiyona girerek tüpün dip rengi kırmızı (bakterilerin glikozu fermente ettiğini), dip rengi sarı yüzey rengi kırmızı (glukozu fermente edip laktozu parçalayan bakteriler) ve tüm yüzey sarı (hem glukoz hem de laktozu kullanabildiği) olarak farklı şekillerde değerlendirilmiştir (Tablo 13).

Tablo 13

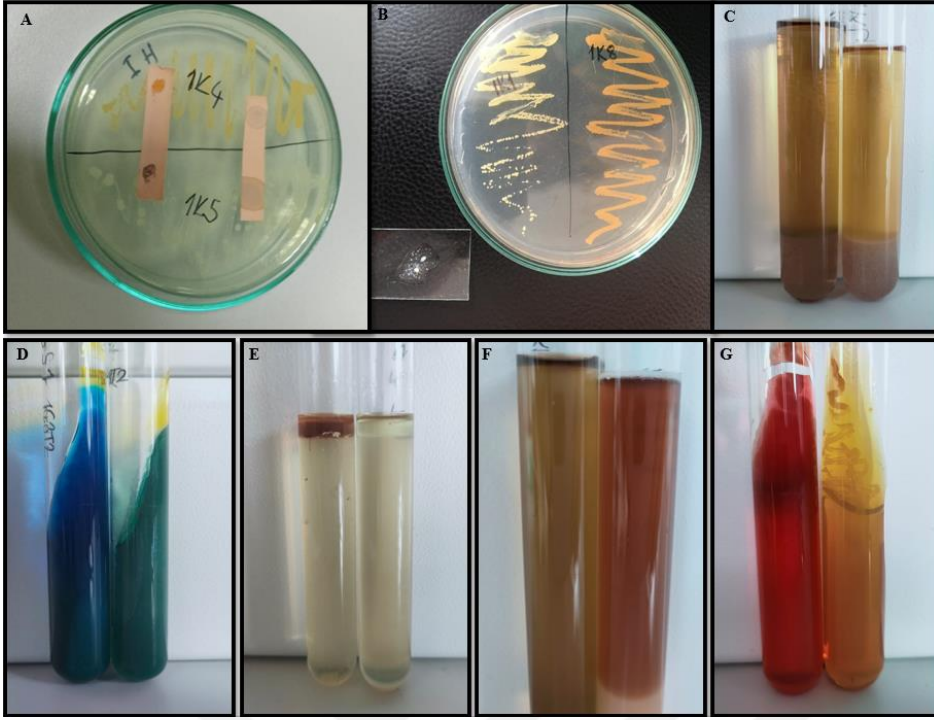
İzolatların biyokimyasal testleri

Kod	Oksidaz Testi	Katalaz Testi	İndol Testi	Sitrat Testi	Fenol Testi	VP Testi	H ₂ S Testi	
							YR	DR
1Ç1 T2	+	-	-	-	-	-	K	S
1Ç2 T1	+	-	-	-	+	+	K	K
1Ç2 T2	+	-	-	-	-	-	K	S
1Ç4 T2	+	+	-	+	-	-	S	K
1K4	-	-	+	-	-	-	S	K
1K8	-	+	+	+	-	-	K	K
1K9	-	-	-	-	-	-	K	K
2Ç3 T1	+	+	-	-	-	-	S	S
2Ç4 T2	+	-	-	-	+	+	S	K
2Ç6 T2	-	-	-	-	+	+	S	K
2Ç7 T1	-	-	+	-	+	+	S	S
2Ç7 T2	-	+	+	-	-	-	S	S
2Ç8 T2	-	+	-	-	-	-	K	K
2K1 T1	+	+	+	-	+	+	S	K
2K1 T2	+	-	-	-	-	-	S	S
2K10 T1	+	-	+	-	+	+	S	S
2K10 T2	+	-	-	+	+	+	S	S
2K11 T1	+	+	+	+	+	+	S	S
2K12	+	+	+	-	+	+	K	S
2K12 T2	-	+	+	-	+	-	K	K
2K13	+	-	-	+	-	+	S	K
2K14	-	+	+	-	+	+	S	K
2K2 T1	-	-	+	+	+	+	S	K
2K2 T2	+	+	+	-	+	+	S	K
2K3 T2	+	-	+	-	+	+	K	K
2K6 T2	+	-	+	-	+	+	K	K
2K7	+	-	-	+	+	+	S	K
2K8 T1	+	+	-	+	+	+	S	K
2K8 T2	+	-	+	+	+	+	S	S

Tablo 13'ün devamı

Kod	Oksidaz Testi	Katalaz Testi	İndol Testi	Sitrat Testi	Fenol Testi	VP Testi	H ₂ S Testi	
1Ç1 T1	+	-	-	-	-	-	S	S
1Ç3 T1	-	-	-	-	+	-	K	S
1Ç3 T2	-	+	-	+	-	-	K	K
1Ç4 T1	+	-	-	+	-	-	S	S
1K1	+	+	-	+	-	-	K	K
1K10	-	+	+	-	-	-	K	K
1K11 T1	-	+	-	-	-	-	S	K
1K2	+	+	-	+	-	-	K	K
1K3	-	+	-	+	-	-	S	K
1K3	-	+	+	+	-	-	K	K
1K5	+	+	+	+	-	-	K	S
1K6	-	+	+	-	-	-	K	K
1K7	-	+	-	+	-	-	S	S
2Ç1 T1	+	+	+	-	-	-	K	K
2Ç2 T1	+	-	+	+	-	-	K	K
2Ç2T2	+	+	-	+	+	+	S	S
2Ç3 T2	-	+	+	+	+	+	S	S
2Ç4 T1	+	+	+	-	+	+	K	K
2Ç5 T1	-	-	-	-	-	-	K	S
2Ç5 T2	+	+	-	-	+	+	K	K
2Ç6 T1	-	-	+	-	+	+	S	K
2Ç8 T1	+	-	-	+	+	+	K	K
2Ç9 T1	+	-	+	-	-	-	S	S
2Ç9 T2	-	+	+	-	-	-	K	K
2K11 T2	+	-	+	-	+	+	S	K
2K3 T1	-	+	+	-	+	+	K	K
2K4 T1	-	-	-	-	+	+	S	S
2K4 T2	-	-	-	-	+	+	S	S
2K5 T1	-	+	-	-	+	+	K	K
2K6 T1	+	+	+	-	-	+	S	S
2K9	+	-	+	-	+	+	S	S

(+: Renk değişimin olduğunu, -: Renk değişimin olmadığını; YR: Yüzey rengi, DR: Dip rengi, K: Kırmızı, S: Sarı)



Şekil 17. İzolatların biyokimyasal test görüntüleri (A: oksidaz testi, B: katalaz testi, C: fenol testi, D: sitrat testi, E: indol testi, F: VP testi, G: H₂S testi).

Çalışılan izolatların antibiyotiklere karşı göstermiş oldukları duyarlılık ve dirençlilik durumları Tablo 14’te verilmiştir. Denizel habitatta elde edilen izolatlardan 7 adet bakteri izolatının NV5, 3 adet bakteri izolatının E15, 9 adet bakteri izolatının S10, 5 adet bakteri izolatının B0,04, 6 adet bakteri izolatının P10, 6 adet bakteri izolatının AM10, 5 adet bakteri izolatının TE30, 3 adet bakteri izolatının C30, 6 adet bakteri izolatının VAN30 antibiyotiğine karşı direnç geliştirdiği tespit edilmiştir. Ek olarak izolatlardan elde ettiğimiz sonuçlara göre, sırasıyla 53, 26, 38, 49, 24, 48, 43, 48 ve 46 adet bakteri izolatı NV5, E15, S10, B0,04, P10, AM10, TE30, C30 ve VAN30 antibiyotiklerine karşı duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 14, Şekil 18).

Tablo 14

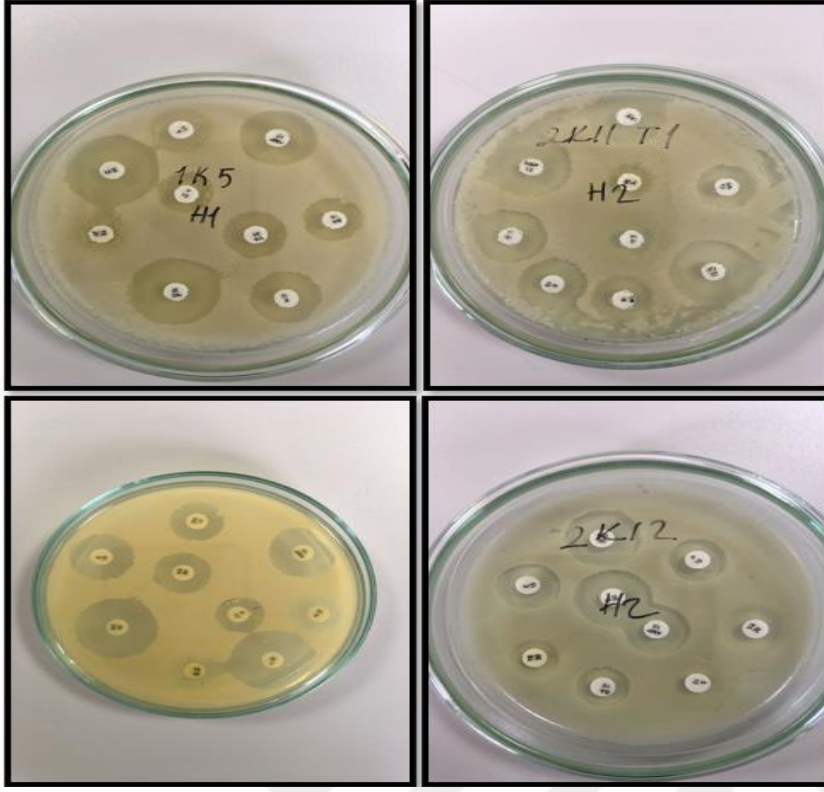
İzolatların antibiyotik duyarlılık testleri (mm)

Kod	NV5	E15	S10	B0,04	P10	AM10	TE30	C30	VAN30
2Ç3 T1	22 ^S	22 ^I	12 ^I	18 ^S	13 ^I	20 ^S	17 ^S	32 ^S	25 ^S
2Ç3 T2	24 ^S	23 ^S	12 ^I	19 ^S	12 ^I	9 ^R	15 ^S	30 ^S	19 ^S
2Ç8 T2	29 ^S	22 ^I	20 ^S	20 ^S	24 ^S	28 ^S	17 ^S	31 ^S	19 ^S
2K12 T2	27 ^S	22 ^I	20 ^S	20 ^S	24 ^S	28 ^S	17 ^S	31 ^S	21 ^S
2K1 T2	20 ^S	16 ^I	20 ^S	14 ^S	15 ^I	17 ^S	14 ^I	19 ^I	16 ^I
2K8 T2	10 ^R	14 ^I	14 ^I	8 ^R	11 ^R	13 ^I	7 ^R	23 ^S	7 ^R

Tablo 14'ün devamı

Kod	NV	E	S	B	P	AM	TE	C30	VAN30
2Ç2 T1	28 ^S	22 ^I	10 ^R	18 ^S	19 ^I	18 ^S	14 ^I	30 ^S	20 ^S
2K8 T1	9 ^R	20 ^I	19 ^S	10 ^I	13 ^I	13 ^R	10 ^R	29 ^S	7 ^R
2K2 T1	22 ^S	24 ^I	15 ^S	27 ^S	19 ^I	31 ^S	18 ^S	22 ^S	20 ^S
2Ç4 T1	32 ^S	20 ^I	17 ^S	22 ^S	28 ^S	25 ^S	25 ^S	24 ^S	28 ^S
2K4 T1	35 ^S	27 ^S	17 ^S	9 ^I	15 ^I	14 ^I	20 ^S	28 ^S	28 ^S
2Ç1 T1	32 ^S	16 ^I	20 ^S	23 ^S	18 ^I	27 ^S	20 ^S	34 ^S	17 ^S
2Ç4 T2	13 ^R	23 ^S	12 ^I	16 ^S	18 ^I	19 ^S	12 ^I	27 ^S	23 ^S
2K11 T1	23 ^S	18 ^I	20 ^S	16 ^S	20 ^I	22 ^S	16 ^S	22 ^S	16 ^I
2Ç7 T1	31 ^S	23 ^S	9 ^R	18 ^S	31 ^S	21 ^S	14 ^I	27 ^S	18 ^S
2Ç8 T1	30 ^S	30 ^S	21 ^S	17 ^S	7 ^R	20 ^S	18 ^S	26 ^S	27 ^S
2K12	19 ^S	16 ^I	20 ^S	14 ^S	14 ^I	17 ^S	13 ^I	19 ^I	16 ^I
2K9	10 ^R	21 ^I	15 ^S	8 ^R	20 ^I	20 ^S	10 ^R	20 ^I	7 ^R
2Ç7 T2	25 ^S	30 ^S	27 ^S	22 ^S	30 ^S	24 ^S	16 ^S	21 ^S	19 ^S
2Ç9 T2	30 ^S	27 ^S	23 ^S	20 ^S	26 ^S	30 ^S	25 ^S	30 ^S	25 ^S
2K5 T1	28 ^S	25 ^S	23 ^S	10 ^I	15 ^I	18 ^S	18 ^S	30 ^S	20 ^S
2K3 T2	27 ^S	27 ^S	13 ^I	7 ^R	8 ^R	11 ^R	15 ^S	27 ^S	19 ^I
2K3 T1	25 ^S	25 ^S	10 ^R	13 ^S	19 ^S	22 ^S	20 ^S	37 ^S	20 ^S
2Ç5 T1	31 ^S	22 ^I	15 ^S	17 ^S	15 ^I	22 ^S	15 ^S	20 ^I	32 ^S
2K11 T2	22 ^S	33 ^S	22 ^S	7 ^R	7 ^R	9 ^R	14 ^I	24 ^S	20 ^S
2K7	26 ^S	34 ^S	18 ^S	28 ^S	15 ^I	27 ^S	17 ^S	23 ^S	19 ^S
2Ç2 T2	30 ^S	22 ^I	13 ^I	18 ^S	21 ^I	18 ^S	17 ^S	28 ^S	26 ^S
2K4 T2	27 ^S	25 ^S	27 ^S	19 ^S	30 ^S	23 ^S	20 ^S	25 ^S	25 ^S
2K13	29 ^S	27 ^S	18 ^S	20 ^S	25 ^S	23 ^S	20 ^S	27 ^S	22 ^S
2Ç9 T1	7 ^R	7 ^R	25 ^S	7 ^R	7 ^R	7 ^R	17 ^S	7 ^R	7 ^R
2K6 T1	9 ^R	21 ^I	17 ^S	9 ^I	18 ^I	10 ^R	7 ^R	25 ^S	8 ^R
2K10 T1	25 ^S	24 ^S	25 ^S	23 ^S	21 ^I	26 ^S	17 ^S	22 ^S	18 ^S
2Ç5 T2	33 ^S	17 ^I	17 ^S	22 ^S	23 ^S	30 ^S	20 ^S	30 ^S	20 ^S
2Ç6 T1	30 ^S	27 ^S	12 ^I	28 ^S	25 ^S	20 ^S	25 ^S	30 ^S	24 ^S
2K2 T2	40 ^S	25 ^S	14 ^I	20 ^S	30 ^S	25 ^S	20 ^S	23 ^S	20 ^S
2K10 T2	12 ^R	17 ^I	8 ^R	9 ^I	15 ^I	27 ^S	9 ^R	16 ^R	19 ^S
2K6 T2	10 ^R	7 ^R	10 ^R	9 ^I	25 ^S	16 ^I	15 ^S	28 ^S	7 ^R
2K14	22 ^S	21 ^I	20 ^S	16 ^S	12 ^I	14 ^I	16 ^S	23 ^S	17 ^S
2Ç6 T2	21 ^S	15 ^I	17 ^S	14 ^S	7 ^R	7 ^R	13 ^I	23 ^S	17 ^S
2K1 T1	22 ^S	21 ^I	23 ^S	17 ^S	17 ^I	18 ^S	15 ^S	22 ^S	16 ^I
1K9	20 ^S	17 ^I	21 ^S	13 ^S	14 ^I	16 ^I	13 ^I	20 ^I	16 ^I
1K5	24 ^S	19 ^I	15 ^S	16 ^S	14 ^I	20 ^S	14 ^I	25 ^S	24 ^S
1K10	30 ^S	20 ^I	15 ^S	15 ^S	19 ^I	23 ^S	12 ^I	25 ^S	17 ^S
1K4	29 ^S	32 ^S	17 ^S	18 ^S	21 ^I	24 ^S	20 ^S	25 ^S	20 ^S
1K6	30 ^S	39 ^S	15 ^S	25 ^S	25 ^S	40 ^S	25 ^S	23 ^S	25 ^S
1K3	30 ^S	24 ^S	10 ^R	24 ^S	30 ^S	25 ^S	25 ^S	14 ^R	27 ^S
1K2	35 ^S	7 ^R	12 ^I	17 ^S	27 ^S	25 ^S	30 ^S	24 ^S	30 ^S
1K7	26 ^S	18 ^I	17 ^S	16 ^S	21 ^I	24 ^S	15 ^S	26 ^S	17 ^S
1K8	32 ^S	33 ^S	10 ^I	25 ^S	37 ^S	33 ^S	17 ^S	28 ^S	15 ^I
1K11 T1	28 ^S	15 ^I	15 ^S	15 ^S	25 ^S	27 ^S	15 ^S	20 ^I	20 ^S
1K1	25 ^S	23 ^S	12 ^I	30 ^S	30 ^S	25 ^S	25 ^S	35 ^S	20 ^S
1K3	32 ^S	28 ^S	7 ^R	23 ^S	26 ^S	28 ^S	15 ^S	15 ^I	19 ^S
1Ç2 T2	25 ^S	17 ^I	17 ^S	20 ^S	24 ^S	25 ^S	17 ^S	30 ^S	20 ^S
1Ç3 T1	30 ^S	21 ^I	19 ^S	17 ^S	23 ^S	21 ^S	20 ^S	30 ^S	20 ^S
1Ç3 T2	22 ^S	18 ^I	19 ^S	15 ^S	14 ^I	18 ^S	13 ^I	22 ^S	16 ^I
1Ç4 T1	30 ^S	20 ^I	10 ^R	17 ^S	22 ^S	27 ^S	20 ^S	20 ^I	20 ^S
1Ç1 T1	40 ^S	25 ^S	8 ^R	16 ^S	30 ^S	26 ^S	20 ^S	28 ^S	25 ^S
1Ç4 T2	33 ^S	25 ^S	12 ^I	20 ^S	25 ^S	30 ^S	22 ^S	25 ^S	27 ^S
1Ç1 T2	30 ^S	30 ^S	17 ^S	25 ^S	22 ^S	28 ^S	12 ^I	25 ^S	25 ^S
1Ç2 T1	35 ^S	18 ^I	11 ^R	20 ^S	18 ^I	22 ^S	20 ^S	20 ^I	20 ^S

(S: Duyarlı; R: Dirençli; I: Orta derecede duyarlı, NV: Novobiyosin, E: Eritromisin, S: Streptomisin, B: Basitrasin, P: Penisilin G, AM: Ampisilin, TE: Tetrasiklin, C30: Kloramfenikol, VAN30: Vankomisin)



Şekil 18. İzolatların antibiyotik duyarlılık test görüntüleri.

Çalışılan izolatların tuz tolerans kapasitelerinin belirlenmesi için %1, %2,5, %5, %7,5, %10, %11,62 NaCl’de üremeleri incelendiğinde 2Ç3T1, 2Ç3T2 ve 2Ç2T1 izolatlarının tüm NaCl ortamlarında gelişmediği belirlenmiştir. Ek olarak %10 ve %11,62 NaCl ortamında 2Ç9T2, 2K3T2, 2Ç2T2, 2K7, 2K13, 2K6T1, 2K10T2, 1K10, 1K7, 1Ç3T7, 1Ç4T2, 1Ç1T2 ve 1Ç2T1’de üreme görülmezken diğer tüm izolatlarda üreme tespit edilmiştir (Tablo 15, Şekil 19).

Tablo 15

İzolatların NaCl toleranslarının belirlenmesi

Kod	%1 NaCl	%2,5 NaCl	%5 NaCl	%7,5 NaCl	%10 NaCl	%11,62 NaCl
2Ç3 T1	-	-	-	-	-	-
2Ç3 T2	-	-	-	-	-	-
2Ç8 T2	+	+	+	+	+	+
2K12 T2	+	+	+	+	+	+
2K1 T2	+	+	+	+	+	+
2K8 T2	+	+	+	+	+	+
2Ç2 T1	-	-	-	-	-	-
2K8 T1	+	+	+	+	+	+
2K2 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç4 T1	+	+	+	+	+	+

Tablo 15'in devamı

Kod	%1 NaCl	%2,5 NaCl	%5 NaCl	%7,5 NaCl	%10 NaCl	%11,62 NaCl
2K4 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç1 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç4 T2	+	+	+	+	+	+
2K11 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç7 T1	+	+	+	+	+	+
2K1 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç8 T1	+	+	+	+	+	+
2K12	+	+	+	+	+	+
2K9	+	+	+	+	+	+
2Ç7 T2	+	+	+	+	+	+
2Ç9 T2	+	+	+	+	-	-
2K5 T1	+	+	+	+	+	+
2K3 T2	+	+	+	+	+	-
2K3 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç5 T1	+	+	+	+	+	+
2K11 T2	+	+	+	+	+	+
2K7	+	+	-	-	-	-
2Ç2 T2	+	+	+	-	-	-
2K4 T2	+	+	+	+	+	+
2K13	+	+	+	-	-	-
2Ç9 T1	+	+	+	+	+	+
2K6 T1	+	+	+	-	-	-
2K10 T1	+	+	+	+	+	+
2Ç5 T2	+	+	+	+	+	+
2Ç6 T1	+	+	+	+	+	+
2K2 T2	+	+	+	+	+	+
2K10 T2	+	+	+	+	+	-
2K6 T2	+	+	+	+	+	+
2K14	+	+	+	+	+	+
2Ç6 T2	+	+	+	+	+	+
1K9	+	+	+	+	+	+
1K5	+	+	+	+	+	+
1K10	+	+	+	+	-	-
1K4	+	+	+	+	+	+
1K6	+	+	+	+	+	+
1K3	+	+	+	+	+	+
1K2	+	+	+	+	+	+
1K7	+	+	+	+	-	-
1K8	+	+	+	+	+	+
1K11 T1	+	+	+	+	+	+
1K1	+	+	+	+	+	+
1K3	+	+	+	+	+	+
1Ç2 T2	+	+	+	+	+	+
1Ç3 T1	+	-	-	-	-	-
1Ç3 T2	+	+	+	+	+	+
1Ç4 T1	+	+	+	+	+	+
1Ç1 T1	-	+	+	+	+	+
1Ç4 T2	+	-	+	+	-	-
1Ç1 T2	-	+	+	-	-	-
1Ç2 T1	+	+	+	+	-	-

(- : Üreme yok, + : Üreme var)



Şekil 19. İzolatların tuz tolerans kapasitelerinin belirlenmesini ait görüntüler.

4.2.3. Bakterilerin PGPR Olma Özelliklerinin Belirlenmesi

İzole edilen bakterilerin PGPR olma özelliklerini değerlendirmek amacıyla fosfor çözme, azot fikse etme kapasiteleri, ACC deaminaz enzim aktiviteleri, IAA ve siderofor üretme kapasiteleri belirlenerek Tablo 16’de sunulmuştur. Ek olarak bakterilerin potasyum çözme kapasitelerini belirlenmesi ile ilgili analizden sonuç alınamamıştır. Diğer yandan, izolatların fosfor çözme kapasitesi incelendiğinde 18 tanesi (2Ç2T2, 2K14, 1K11T1, 1K8, 2K11T2, 1Ç4T1, 2K7, 1K10, 1Ç4T2, 1Ç1T2, 1K11T1, 2K2T2, 1Ç1T1, 1K3, 2K4T2, 1K4, 2K3T1, 2Ç6T2) negatif olarak değerlendirilirken 42 tanesinin fosfor çözme kapasitesinin pozitif olduğu belirlenmiştir (Tablo 16, Şekil 20). Siderofor üretme kapasitelerinin belirlenmesi için, içeriğinde demir bulunan CAS agarda, ürettikleri siderofor ile oluşan rengin zon çapı hesaplanarak değerlendirilmiştir (Tablo 16, Şekil 20). Bu bağlamda 49 tane izolatın siderofor üretimi negatif, 11 tane izolatın ise pozitif olarak belirlenirken özellikle 24 mm zon çapı ile 2K10T2 ve T1 kodlu izolat en yüksek siderofor ürettiği belirlenmiştir. ACC deaminaz enzim aktivitesi incelendiğinde 13 tanesinin (1Ç2T1, 1K9, 1K7, 2Ç4T1, 2Ç7T2, 1K2, 1K3, 1K11, 2Ç5T2, 2K2T2, 1Ç1T1, 1K4, 2K3T1) negatif olduğu 47 tanesinin ise pozitif olduğu belirlenmiştir (Tablo 16). Azot fikse eden izolatları belirlemek için azotsuz

sıvı besi ortamında inkübasyona bırakılan izolatlardan 4 tanesi (1Ç2T1, 2K6T2, 1Ç3T1, 2K10) negatif olarak belirlenirken geriye kalan tüm izolatların azotu fikse ettikleri tespit edilmiştir (Tablo 16, Şekil 21). Bakterilerin IAA üretim miktarlarını belirlemek için triptofan içeren nutrient broth ortamına inkübasyona bırakılarak Salkowski ayırıcı ile pembe-kırmızı renk değişimi olan izolatlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Şekil 22). Ek olarak izolatların 530 nm’de IAA miktarları incelendiğinde en yüksek 2K10, 2Ç6 ve 1Ç1 izolatlarının sırasıyla 75,0, 78,0 ve 83,5 ($\mu\text{g ml}^{-1}$) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 16).

Tablo 16

İzolatların PGPR olma özellikleri

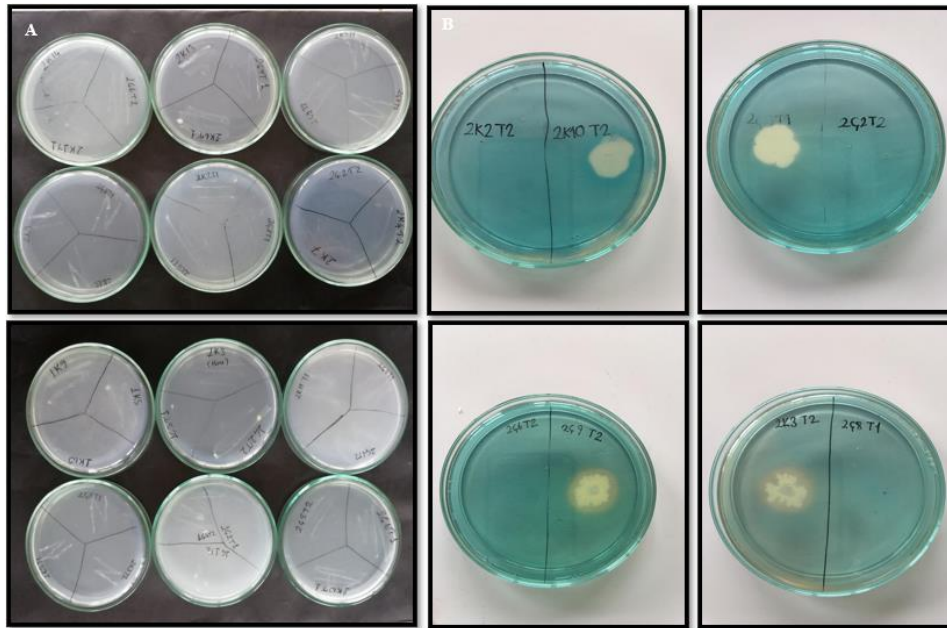
İzolat Kodu	NBRIP (mm)			CAS (mm)	ACC	Azot Fiksasyonu	IAA ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
	Zon Çapı	Koloni Çapı	Fosfor Çözme Katsayısı	Zon Çapı	Üreme	Üreme	530 nm
2K10 T2	12	7	2,71	24	+	+	75,0
2Ç7 T1	12	8	1,50	-	+	+	5,8
2K6 T1	11	6	1,83	-	+	+	9,0
1K5	10	5	2,00	-	+	+	15,2
2K5 T1	9	5	1,80	-	+	+	23,1
2Ç1 T1	8	5	1,60	-	+	+	73,7
2Ç2 T1	15	6	2,50	-	+	+	20,4
1K1	67	62	1,08	-	+	+	26,5
1Ç3 T2	15	12	1,25	-	+	+	24,9
2K8 T1	31	25	1,24	-	+	+	21,7
1Ç2 T1	18	12	1,50	-	-	-	8,4
2K12 T2	25	14	1,79	-	+	+	33,2
2K3 T2	15	6	2,50	23	+	+	23,7
2Ç6 T1	10	5	1,80	-	+	+	61,5
1Ç2 T2	13	8	1,63	-	+	+	7,0
2Ç3 T1	12	10	1,20	20	+	+	23,7
2K9	17	15	1,13	20	+	+	28,2
2K4 T1	43	36	1,19	-	+	+	23,2

Tablo 16'nın devamı

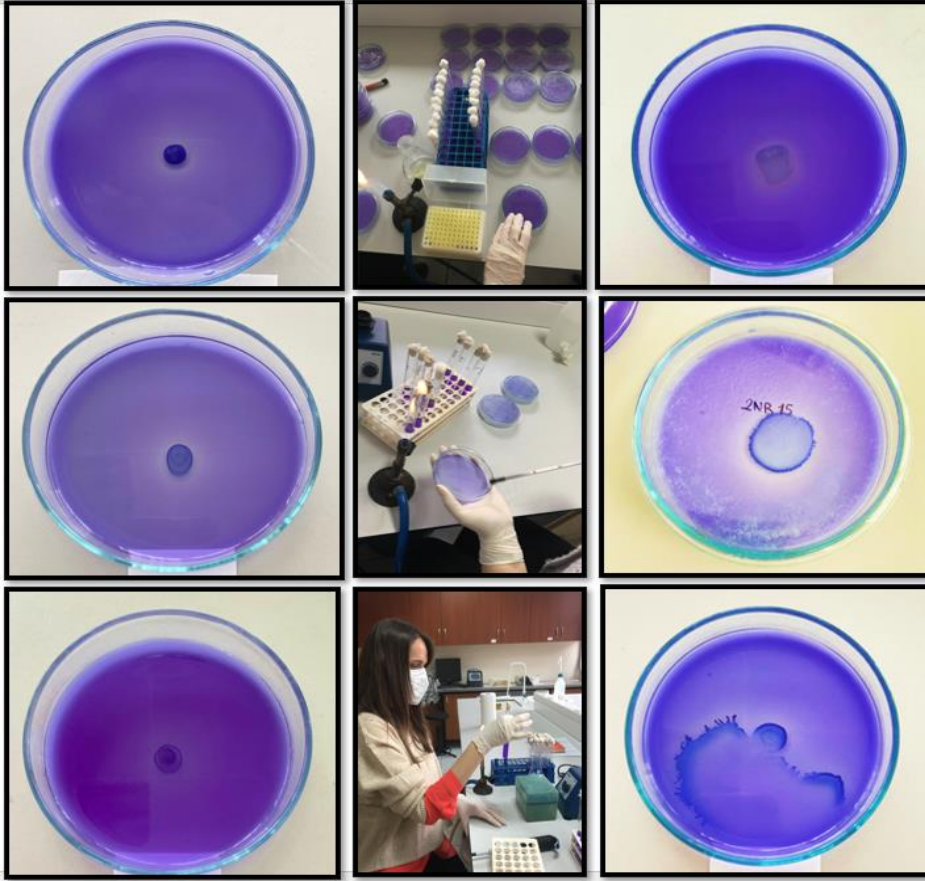
İzolat Kodu	NBRIP (mm)			CAS (mm)	ACC	Azot Fiksasyonu	IAA ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
	Zon Çapı	Koloni Çapı	Fosfor Çözme Katsayısı	Zon Çapı	Üreme	Üreme	530 nm
2Ç8 T1	15	12	1,25		+	+	22,7
2Ç5 T1	27	20	1,35	-	+	+	27,6
1K9	13	8	1,63	-	-	+	8,0
2Ç9 T2	52	46	1,13	23	+	+	22,8
2Ç4 T2	28	19	1,47	-	+	+	24,9
1K7	33	31	1,06	-	-	+	7,5
2Ç4 T1	15	13	1,15	-	-	+	6,0
2K8 T2	11	8	1,38	17	+	+	22,4
2Ç8 T2	10	7	1,43	-	+	+	20,4
2K6 T2	15	11	1,36	-	+	-	24,3
2Ç2 T2	-	4	-	-	+	+	40,4
2K14	-	-	-	18	+	+	24,3
1Ç3 T1	13	9	1,44	-	+	-	20,0
2K10 T1	27	25	1,08	24	+	+	66,6
2Ç7 T2	16	14	1,14	-	-	+	5,4
2K12	23	18	1,28	-	+	+	41,2
1K2	10	8	1,25	-	-	+	6,0
1K3	12	18	0,67	-	-	+	7,6
2Ç3 T2	13	11	1,18	-	-	+	5,8
2K2 T1	8	7	1,14	-	+	+	23,3
1K11 T1	-	7	-	-	-	+	7,0
1K6	18	16	1,13	19	+	+	25,7
1K8	-	-	-	-	+	+	5,8
2K11 T2	-	-	-	-	+	+	21,8
1Ç4 T1	-	-	-	4	+	+	6,4
2K7	-	-	-	-	+	+	4,9
1K10	-	-	-	-	+	-	7,5
2Ç5 T2	12	7	1,71	-	-	+	5,6

Tablo 16'nın devamı

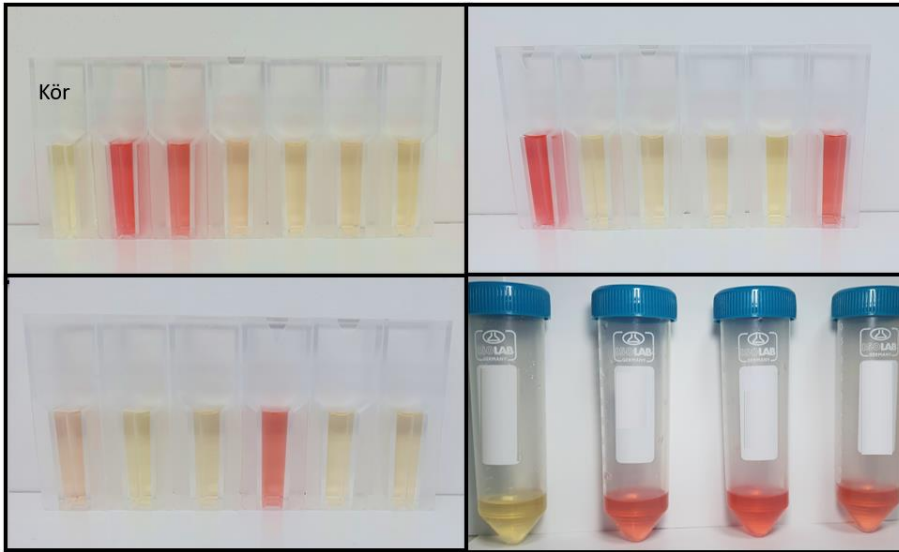
İzolat Kodu	NBRIP (mm)			CAS (mm)	ACC	Azot Fiksasyonu	IAA ($\mu\text{g ml}^{-1}$)
	Zon Çapı	Koloni Çapı	Fosfor Çözme Katsayısı	Zon Çapı	Üreme	Üreme	530 nm
1Ç4 T2	-	-	-	-	+	+	15,2
1Ç1 T2	-	5	-	-	+	+	83,5
2K1 T1	10	8	1,25	-	+	+	3,6
2K11 T1	-	10	-	-	+	+	21,8
2K1 T2	9	7	1,29	-	+	+	25,0
2K2 T2	-	-	-	-	-	+	5,3
1Ç1 T1	-	6	-	-	-	+	8,9
2K13	19	16	1,19	-	+	+	28,6
2Ç9 T1	14	11	1,27	-	+	+	15,7
1K3	-	5	-	-	+	+	7,6
2K4 T2	-	5	-	-	+	+	22,3
1K4	-	5	-	-	-	+	3,6
2K3 T1	-	-	-	2	-	+	5,8
2Ç6 T2	14	10	1,27	23	+	+	78,0



Şekil 20. İzolatların azot fiksasyonu (A) ve CAS agarda siderofor üretimi (B).



Şekil 21. İzolatların NBRIP besi ortamında fosfor üretimi.

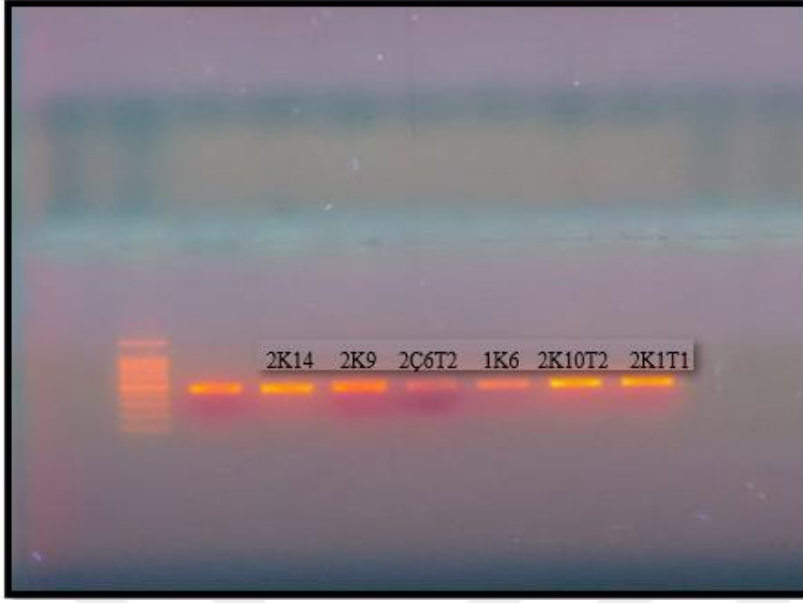


Şekil 22. İzolatların IAA üretim miktarlarındaki renk değişimi.

Çalışılacak bakterilerin PGPR olma kapasiteleri incelendikten sonra 60 izolatın fosfor çözme, azot fikse etme, ACC deaminaz enzim aktiviteleri, IAA ve siderofor üretme kapasiteleri dikkate alınarak ve 300 mM NaCl' deki tuz toleransları tekrar incelenmiştir. Bu bağlamda en iyi üreyen 2K14, 2K9, 2Ç6T2, 1K6, 2K10T2 ve 2K1T1 kodlu 6 izolat arpa tohumlarına inokülasyonu ile ön denemeler gerçekleştirilmesine ve 16S rDNA dizi analizine bu izolatların gönderilmesine karar verilmiştir.

4.2.4. Bakterilerin 16S rDNA Dizi Analizi

Çanakkale ili topraklarından izole edilen bakteri örneklerinden 16S rDNA primerleri kullanılarak çoğaltılan PCR ürünlerinin jel görüntüleri (Şekil 23) ve bu çoğaltılan bölgelerin dizi analizinden elde edilen baz sıralarının NCBI BLAST veri tabanında gerçekleştirilen karşılaştırmalı yorumlarından ortaya çıkan tanı sonuçları, Tablo 17'de sunulmuştur. Çalışmamızda Çanakkale Lapseki kıyı zonu ve Çardak Lagünü'nden alınan toprak örneklerinden izole edilen 60 bakterinin morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve PGPR olma özellikleri araştırıldıktan sonra seçilen 6 izolatın 16S rDNA gen dizi analizleri NCBI, BLAST uygulaması kullanılarak 2K14 izolatu *Halomonas* sp. QNSJ1 ile, 2K9 izolatu *B. thuringiensis* SIRB2, 2Ç6T2 izolatu *M. luteus* ile, 1K6 izolatu *S. aureus* IMBL 3.3 ile, 2K10T2 *B. nealsonii* LE3 ve 2K1T1' de *B. cereus* CUN6 ile benzer oldukları GenBank erişim numaraları ve benzerlik oranları Tablo 17'de sunulmuştur. Diğer yandan Gupta vd. (2020), yaptıkları çalışmada *B. nealsonii* türünün yakın zamanda *Niallia* cinsine aktarıldığı ve tür adının *N. nealsonii* olarak değiştirildiğini bildirmiştir. Ancak bu tür ile gerçekleştirilen son bir çalışmada (Pandey vd., 2023) mevcut ismin kullanılmaya devam ettiği belirlenmiştir. Bu nedenle tez çalışması için araştırmalara *B. nealsonii* olarak devam edilmiştir. Zaten, *Bacillus* taksonomik ilişkileri inceleyen çalışmalarda monofiletik dal olarak tanımlanmış olsa dahi filogenetik olarak bu tez çalışmasında *B. nealsonii* benzer bulunmuştur. Diğer yandan moleküler evrim genetik analizi adında MEGA programı kullanılarak filogenetik ağaç Şekil 24'te sunulmuştur.

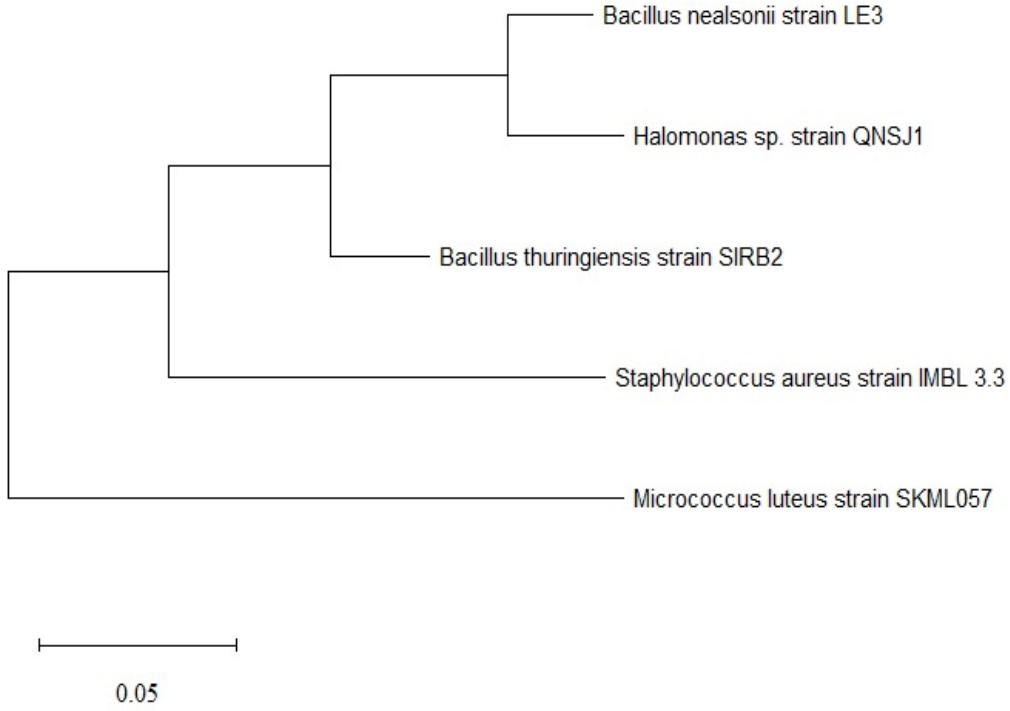


Şekil 23. 16S rDNA PCR ürünleri jel görüntüsü.

Tablo 17

Bakteri izolatların 16S rRNA dizilimine göre moleküler tanımlanması

İzolat Kodu	Benzerlik Gösterdiği Tür	Benzerlik Oranı (%)	Erişim Numarası
2K14	<i>Halomonas</i> sp. QNSJ1	100	FJ384462.1
2K9	<i>Bacillus thuringiensis</i> SIRB2	100	MT510408.1
2Ç6T2	<i>Micrococcus luteus</i> SKML057	100	CP101465.1
1K6	<i>Staphylococcus aureus</i> IMBL 3.3	93,82	JX844641.1
2K10T2	<i>Bacillus nealsonii</i> LE3	100	MT279461.1
2K1T1	<i>Bacillus cereus</i> CUN6	100	MH997515.1



Şekil 24. Mega yöntemi kullanılarak 16S rRNA sekans sonuçları ile oluşturulan filogenetik ağaç.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile birlikte PGPR olma kapasiteleri ve tüm literatür çalışmaları incelendiğinde ve 6 izolat ile gerçekleştirilen ön denemenin fizyolojik ve biyokimyasal sonuçları yorumlandığında esas tez çalışma için *M. luteus* SKML057 ve *B. nealsonii* LE3 bakterilerinin tuz stresi (0, 100, 300 mM NaCl) altındaki *H. vulgare* ve *H. marinum* tohumlarına inokülasyonu ile elde edilen fizyolojik ve biyokimyasal çalışmalar sunulmuştur.

4.3. Fizyolojik Analizler

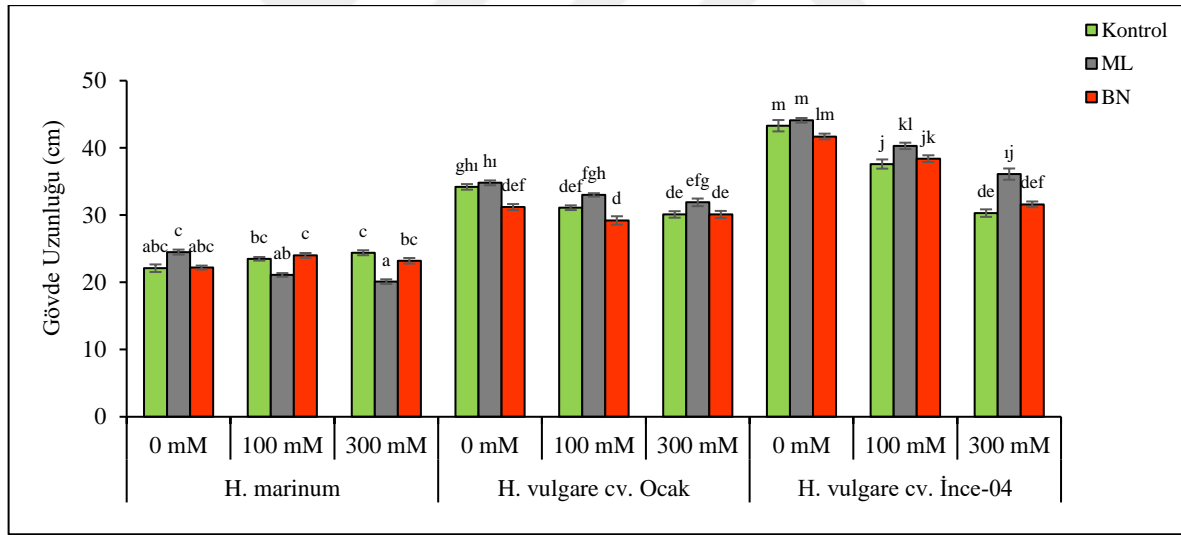
4.3.1. Kök-Gövde Uzunluğu

M. luteus (ML) inokülasyonu tuz uygulanmayan grupta (0 mM NaCl) *H. marinum*'un gövde uzunluğunu kontrole kıyasla %11 arttırırken, 100 ve 300 mM NaCl uygulamalarında ise sırasıyla %10 ve %18 azaltmıştır. *B. nealsonii* (BN) inokülasyonu ise kontrole kıyasla tuz içermeyen grupta gövde uzunluğunda anlamlı bir değişime neden

olmamıştır. Diğer yandan, 100 mM NaCl uygulamasında gövde uzunluğunu %2 arttırmasına rağmen 300 mM NaCl uygulamasında %5 azaltmıştır.

Tuz stresine dayanıklı çeşit *Ocak*'ta ise gövde uzunluğu ML uygulamasıyla 0 mM NaCl grubunda %2 artan gövde uzunluğu 100 ve 300 mM NaCl uygulamalarında %6 artışa neden olmuştur. BN uygulaması ise tuz içermeyen grupta gövde uzunluğunu kontrole kıyasla %9 azaltırken, 100 mM NaCl grubunda %6 azalmış 300 mM NaCl uygulamasında ise herhangi bir değişime neden olmamıştır.

Tuzluluğa hassas çeşit olan *İnce-04*'te gövde uzunluğu ML uygulamasıyla 0, 100 ve 300 mM NaCl stresi altında kontrole kıyasla sırasıyla %2, %7 ve %19 artmıştır. Benzer şekilde BN uygulaması ise kontrole kıyasla 100 ve 300 mM NaCl stresi altında gövde uzunluğunu sırasıyla %2 ve %4 arttırmıştır. Ancak BN uygulaması tuz içermeyen grupta ise gövde uzunluğunu %4 azaltmıştır (Şekil 25).



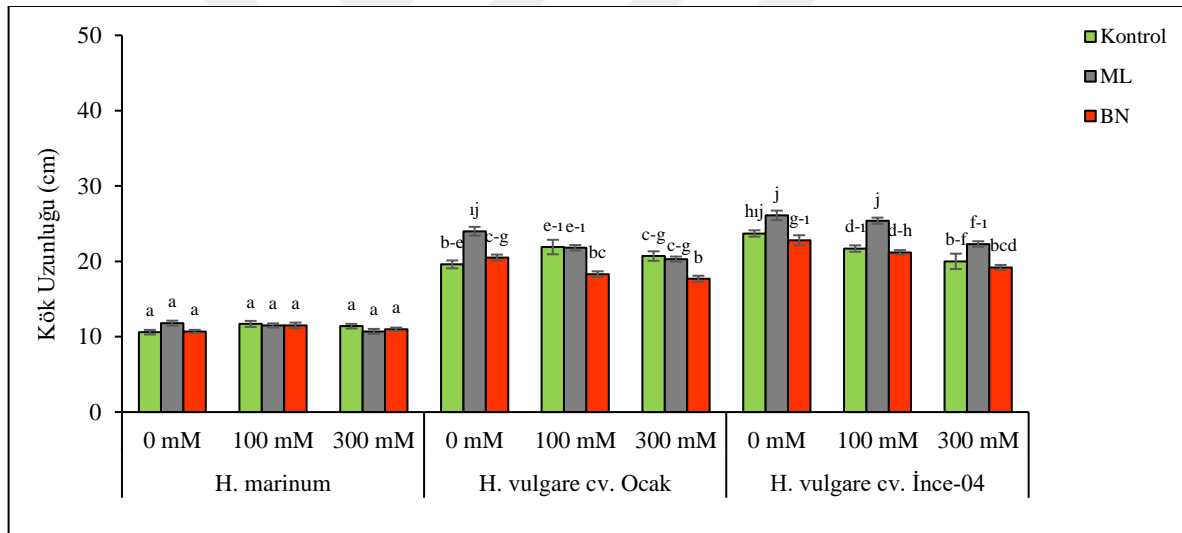
Şekil 25. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının gövde uzunluğu üzerine etkisi (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

H. marinum'da kök uzunluklarının tüm tuz konsantrasyonlarında her iki bakteri inokülasyonu ile anlamlı bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Kök uzunluğu 0 mM NaCl

grubunda ML uygulamasıyla kontrole kıyasla %11 artarken, 100 mM NaCl ve 300 mM NaCl gruplarında tüm uygulamalar ile kök uzunluğu %2-6 azalmıştır.

Ocak çeşidinde ML uygulaması 0 mM NaCl grubunda kök uzunluğunu anlamlı şekilde %22 arttırmasına rağmen, diğer tuz stresi konsantrasyonlarında kök uzunluğunu anlamlı şekilde değiştirmedeği belirlenmiştir. BN uygulaması ise kök uzunluğunu bu çeşitte 0 mM NaCl grubunda anlamlı şekilde %5 arttırmış, ancak 100 ve 300 mM NaCl konsantrasyonlarında kontrole kıyasla sırasıyla %16 ve %14 azaltmıştır.

İnce-04 çeşidinde ise kök uzunlukları ML uygulaması ile 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında anlamlı şekilde sırasıyla %10, %17 ve %12 artmıştır. Buna zıt şekilde BN uygulaması ise kontrole kıyasla 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla kök uzunluklarını anlamlı şekilde %4, %2 ve %4 azaltmıştır (Şekil 26).



Şekil 26. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. maritimum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının kök uzunluğu üzerine etkisi (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

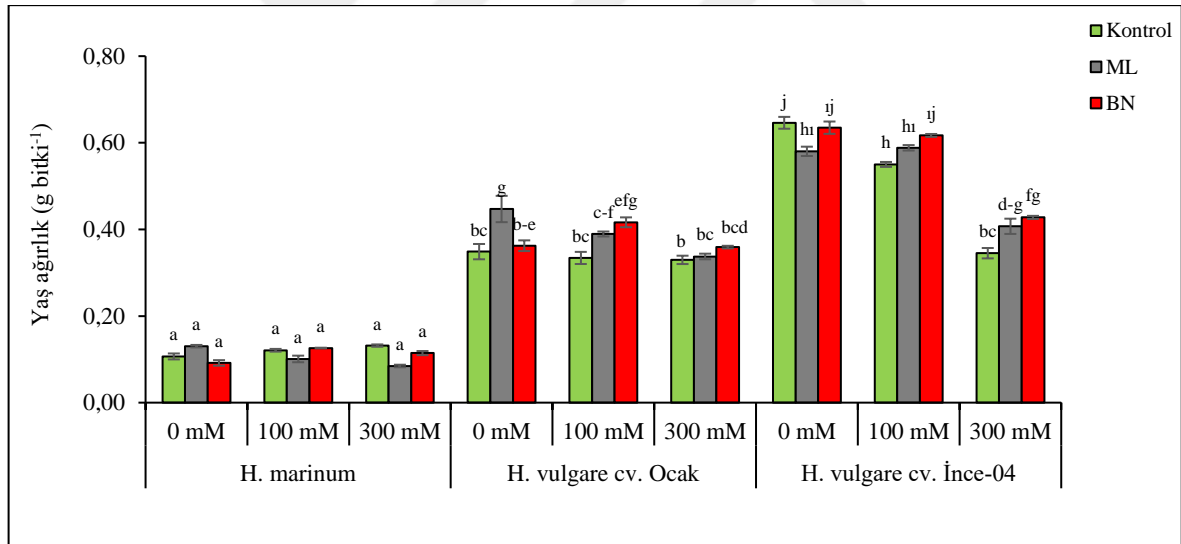
4.3.2. Yaş ve Kuru Ağırlık

H. maritimum da her iki bakterinin inokülasyon uygulamasının yaş ağırlıkta kontrole kıyasla anlamlı bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, yaş ağırlık 0

mM NaCl grubunda ML inokülasyonu ile kontrole kıyasla %22 artarken, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla %17 ve %36 azalmıştır. Diğer yandan, BN inokülasyonu ise 0 ve 300 mM NaCl gruplarında yaş ağırlığı %14 azaltırken 100 mM NaCl grubunda %4 arttırmıştır.

Tuza dayanıklı olan *Ocak* çeşidinde ise yaş ağırlık 300 mM NaCl grubunda ML inokülasyonu ile anlamlı değişim göstermezken, 0 ve 100 mM NaCl gruplarında yaş ağırlığı sırasıyla %28 ve %17 arttırmıştır. BN inokülasyonu ise bu çeşitte yaş ağırlığı sadece 100 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla %25 ve %9 arttırmıştır.

Diğer tuz gruplarının tersine *İnce-04* çeşidinde sadece 0 mM NaCl grubunda her iki bakterinin inokülasyonu yaş ağırlığı azaltmıştır. Bununla birlikte, artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak yaş ağırlık ML inokülasyonu ile %7–18, BN inokülasyonu ile %12–24 artmıştır (Şekil 27).



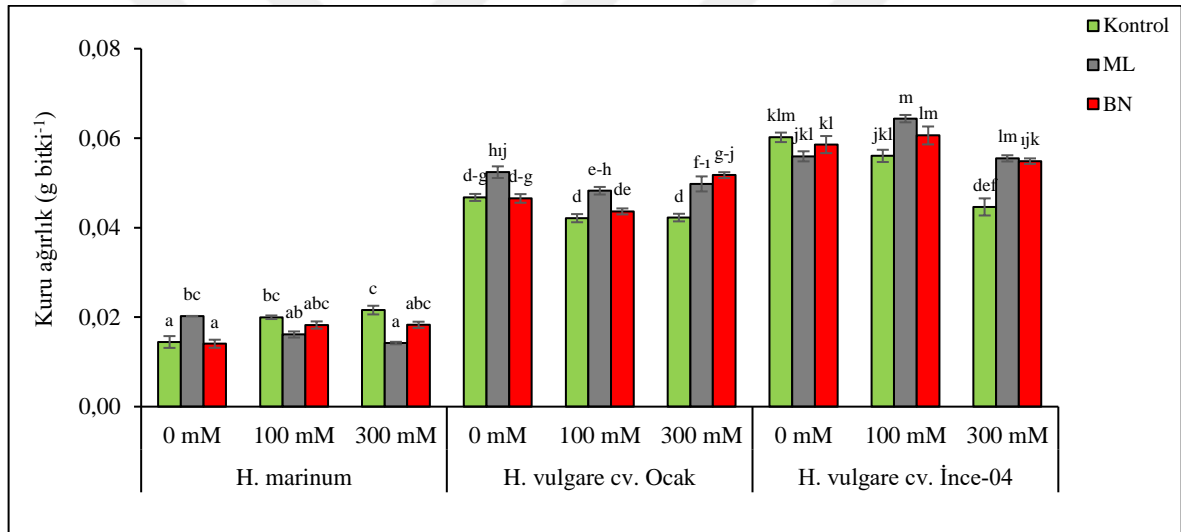
Şekil 27. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının yaş ağırlık üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

H. marinum da 0 mM NaCl grubunda ML uygulaması ile kuru ağırlık kontrole kıyasla dramatik şekilde %40 artmıştır. Buna zıt şekilde, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında

sırasıyla %19 ve %34 azalmıştır. BN inokülasyonu ise artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak kuru ağırlığı %9–15 azaltmıştır.

ML inokülasyonu *Ocak* çeşidinde tüm tuz stres gruplarında kuru ağırlığı kontrole kıyasla anlamlı şekilde arttırmıştır. Buna göre 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında kuru ağırlıktaki artışlar sırasıyla %12, %15 ve %18 olarak belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise özellikle 300 mM NaCl grubunda kuru ağırlığı %23 arttırırken diğer gruplarda anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Tuza hassas çeşit *İnce-04*'te kuru ağırlık 0 mM NaCl grubunda ML inokülasyonu ile %7 azalmıştır. Buna zıt şekilde 100 ve 300 mM NaCl grubunda ise kontrole kıyasla sırasıyla %15 ve %24 arttırmıştır. Benzer şekilde BN inokülasyonu 100 ve 300 mM NaCl gruplarında kuru ağırlığı kontrole kıyasla sırasıyla %8 ve %23 arttırmıştır (Şekil 28).



Şekil 28. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. maritimum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının kuru ağırlık üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

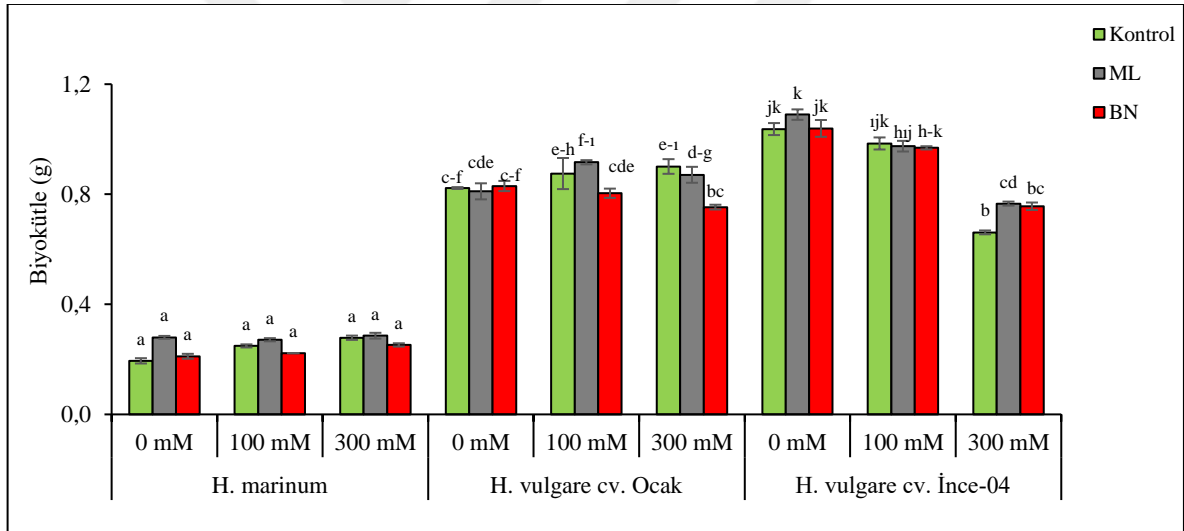
4.3.3. Biyokütle

H. maritimum da her iki bakterinin inokülasyon uygulamasının biyokütlede kontrole kıyasla anlamlı bir değişime neden olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, ML inokülasyonu *H. maritimum* da biyokütleyi 0, 100 ve 300 mM NaCl stres gruplarında sırasıyla

%44, %9 ve %3 arttırmıştır. BN inokülasyonu ise 0 mM NaCl'de biyokütleyi % 4 arttırsa da diğer tuz konsantrasyonlarında %10 azaltmıştır .

Benzer şekilde, *Ocak* çeşidinin de 0mM NaCl grubunda her iki bakteri inokülasyonu biyoküttele anlamlı bir değişime neden olmamıştır. ML inokülasyonu diğer konsanstrasyonlarda da anlamlı bir değişime neden olmazken, BN inokülasyonu artan tuz konsantrasyonuna paralel şekilde biyokütleyi bu çeşitte %8-16 azaltmıştır.

İnce-04'te ise biyokütle 0 ve 100 mM NaCl gruplarında her iki bakteri inokülasyonu anlamlı değişim göstermemiştir. Buna zıt şekilde, 300 mM NaCl uygulamasında her iki bakteri inokülasyonu bu çeşidin biyokütlesini anlamlı şekilde arttırmıştır. Bu artışlar ML ve BN inokülasyonu için sırasıyla %16 ve %14 olarak belirlenmiştir (Şekil 29).










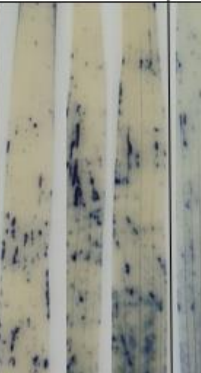
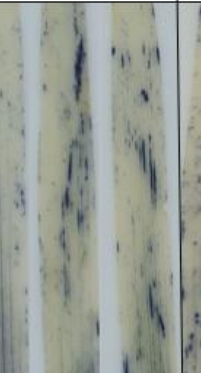
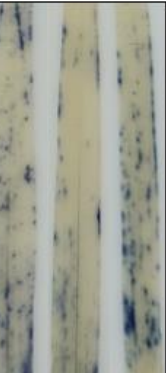


Şekil 29. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının biyokütleye üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.3.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Histokimyasal Belirlenmesi





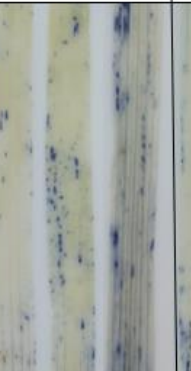

H. marinum ve *H. vulgare* çeşitlerinin yaprak dokularında başlıca ROT'leri olarak H_2O_2 ve O_2^- birikimi histokimyasal boyama yöntemiyle belirlenmiştir (Şekil 30). Tuz

stresinin artmasıyla yaprak dokularında koyu kahverengi lekelenmeler H_2O_2 birikimini göstermektedir. Bu bağlamda hem *Ocak* çeşidi hem de *İnce-04* çeşidinde kontrole kıyasla ML uygulamasında 100 ve 200 mM NaCl de koyu kahve rengi lekelenmelerin azaldığı belirlenmiştir. Diğer yandan artan tuz stresiyle mavi lekelerin oluşması O_2^- birikiminin göstergesidir. Özellikle 100 ve 300 mM NaCl de kontrole kıyasla *Ocak* çeşidinde ML uygulaması, *İnce-04* çeşidinde ise BN uygulaması O_2^- birikimin göstergesi olan koyu mavi lekelenmelerin azaldığı belirlenmiştir (Şekil 30).

<i>Hordeum marinum</i>					
Histochemical determination of hydrogen peroxide (H_2O_2)			Histochemical determination of superoxide anion (O_2^-)		
CONTROL	ML	BN	CONTROL	ML	BN
					
0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300
<i>Hordeum vulgare cv. Ocak</i>					
Histochemical determination of hydrogen peroxide (H_2O_2)			Histochemical determination of superoxide anion (O_2^-)		
CONTROL	ML	BN	CONTROL	ML	BN
					
0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300

Şekil 30. Tuz stresi (0, 100 ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının H_2O_2 ve O_2^- birikiminin histokimyasal belirlenmesi.

Şekil 30'un devamı

<i>Hordeum vulgare</i> cv. <i>İnce-04</i>					
Histochemical determination of hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)			Histochemical determination of superoxide anion (O ₂ ⁻)		
CONTROL	ML	BN	CONTROL	ML	BN
					
0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300	0 100 300

Şekil 30. Tuz stresi (0, 100 ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. *Ocak*, *H. vulgare* cv. *İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının H₂O₂ ve O₂⁻ birikiminin histokimyasal belirlenmesi.

4.4. Biyokimyasal Analizler

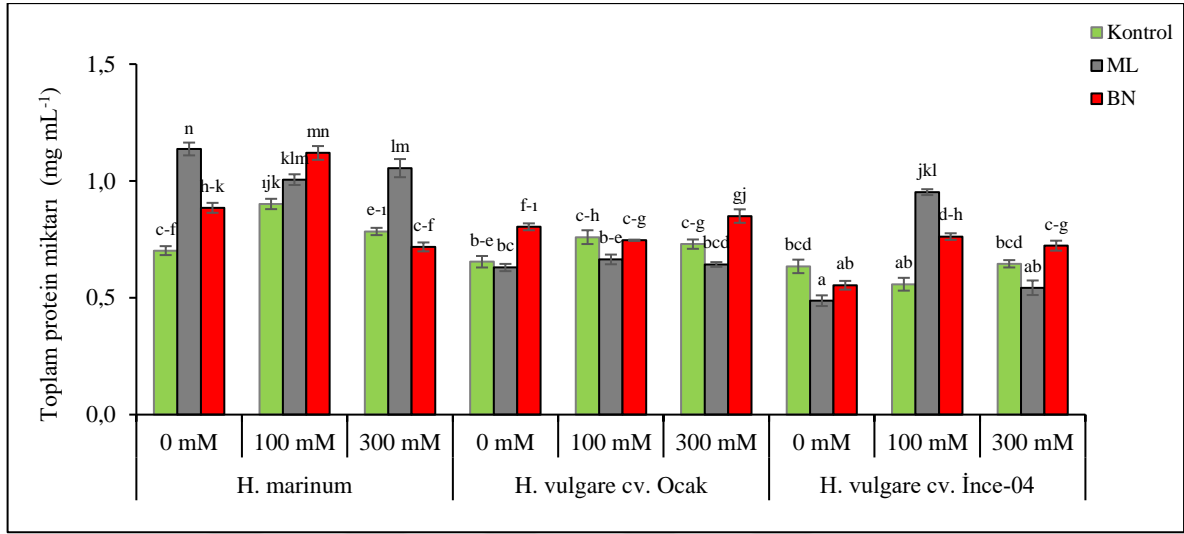
4.4.1. Toplam Protein Miktarının Belirlenmesi

Toplam protein içeriği *H. marinum*' da 300 mM NaCl grubundaki BN inokülasyonu dışındaki tüm konsantrasyonlarda her iki bakteri inokülasyonu ile birlikte anlamlı şekilde artmıştır. Buna göre, ML uygulaması artan tuz konsantrasyonlarında protein miktarını sırasıyla %62, %12 ve %35 arttırmıştır. BN inokülasyonu ise 0 ve 100 mM NaCl gruplarında protein içeriğini sırasıyla %26 ve %24 arttırmıştır.

Ocak çeşidinde ise ML inokülasyonu tüm tuz konsantrasyonlarında protein içeriğini azaltmıştır. Bu azalışlar artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde sırasıyla % 4, %13 ve %12 olarak belirlenmiştir. BN inokülasyonu 0 mM NaCl grubunda protein içeriğini %23 arttırmıştır. 100 mM NaCl grubunda anlamlı bir değişim olmazken 300 mM NaCl'de ise protein içeriğini %16 arttırdığı belirlenmiştir.

Tuza duyarlı *İnce-04*' te toplam protein içeriğinin ML inokülasyonu ile sadece 100 mM NaCl grubunda çarpıcı şekilde %70 artmıştır. Bunun aksine, diğer tuz stresi gruplarında ise %16-23 azaldığı belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise 0 mM NaCl grubunda protein

içeriğini %13 azaltırsa da, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla %37 ve %12 arttırmıştır (Şekil 31).



Şekil 31. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının toplam protein miktarı üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.4.2. Pigment Miktarının Belirlenmesi

Kl-a miktarı *H. marinum*' da 0 mM ve 100 mM NaCl gruplarında kontrole kıyasla her iki bakteri inokülasyonu ile %1-11 azalmıştır. Diğer yandan, 300 mM NaCl grubunda ML ve BN inokülasyonları Kl-a miktarını sırasıyla %17 ve %20 arttırmıştır.

Her iki bakteri inokülasyonu ile *Ocak* çeşidinde 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarının tümünde Kl-a miktarı kontrole kıyasla anlamlı şekilde azalmıştır. Bakteri inokülasyonlarının Kl-a miktarını diğer gruplara kıyasla en çok 100 mM NaCl grubunda azalttığı belirlenmiştir. Bu azalışlar ML ve BN inokülasyonu için sırasıyla %22 ve %32 olarak belirlenmiştir.

İnce-04' te Kl-a miktarı 0 mM NaCl grubunda her iki uygulama ile %7-8 azalmıştır. 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarında ise sadece BN inokülasyonu ile 100 ve 300 mM NaCl gruplarında %11 arttığı belirlenmiştir.

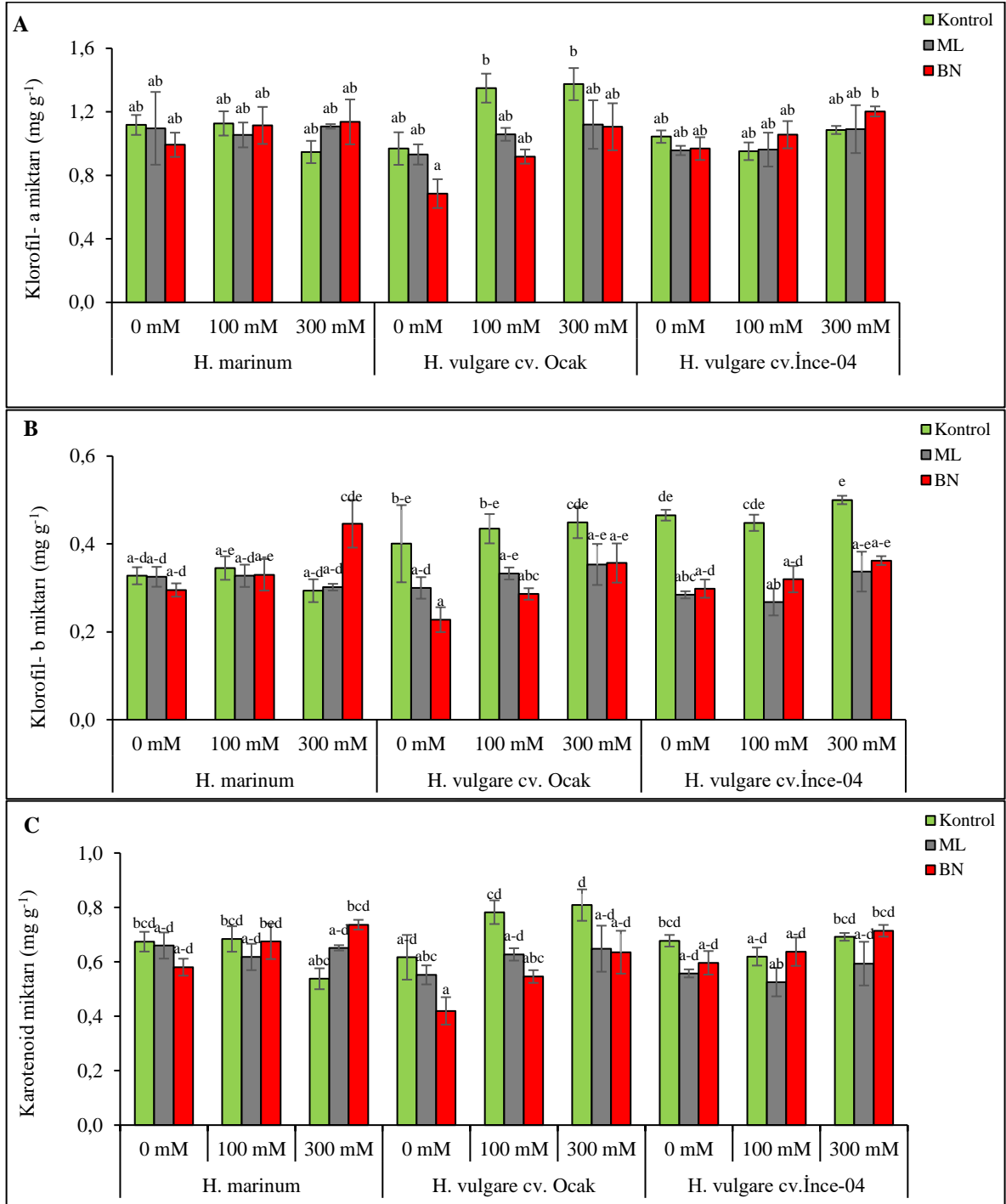
ML ve BN inokülasyonlarının K1-b miktarını halofit *H. marinum* haricindeki tüm çeşit ve tüm tuz stresi gruplarında kontrole kıyasla azalttığı belirlenmiştir. Buna göre, *H. marinum*'un diğer tuz konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim bulunmazken, 300 mM NaCl grubunda ML ve BN inokülasyonları K1-b miktarını sırasıyla %3 ve %52 arttırmıştır.

Benzer şekilde, ML ve BN inokülasyonlarının karotenoid miktarını halofit *H. marinum* haricindeki tüm çeşit ve tüm tuz stresi gruplarında kontrole kıyasla azalttığı belirlenmiştir. Buna göre, *H. marinum*'un sadece 300 mM NaCl grubunda ML ve BN inokülasyonları karotenoid miktarını sırasıyla %21 ve %37 arttırmıştır. Ek olarak, karotenoid miktarı *Ocak* çeşidinde bakteri inokülasyonlarıyla artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde kademeli olarak azalırken, *İnce-04* çeşidinde kontrole kıyasla anlamlı bir değişim göstermemiştir.

H. marinum' da toplam klorofil miktarı artan tuz stresiyle birlikte her iki bakteri inokülasyonu ile tüm gruplarda kontrole kıyasla anlamlı bir değişim bulunmamıştır. Bununla birlikte, sadece BN inokülasyonu 300 mM NaCl grubunda toplam klorofil miktarını %25 arttırmıştır.

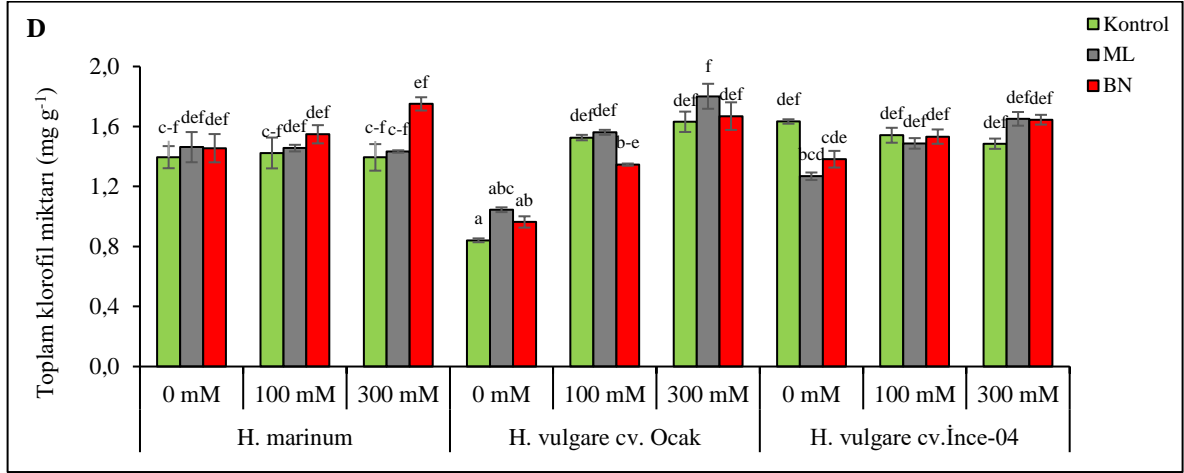
Tuza dayanıklı *Ocak* çeşidinde toplam klorofil miktarı ML inokülasyonu ile 0 ve 300 mM NaCl gruplarında kontrole kıyasla sırasıyla %24 ve %10 artarken, 100 mM NaCl grubunda değişmemiştir. BN inokülasyonu ise bu çeşidin toplam klorofil miktarını 0 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla %15 ve %2 attırarak, ancak 100 mM NaCl grubunda %12 azaltmıştır.

Tuza duyarlı *İnce-04* çeşidinde ise toplam klorofil miktarı 0 mM NaCl grubunda tüm uygulamalar ile azalırken, 100 mM NaCl grubunda kontrole kıyasla anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Diğer yandan, 300 mM NaCl grubunda her iki bakteri inokülasyonu ile toplam klorofil miktarı %11 oranında artmıştır (Şekil 32)



Şekil 32. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. *Ocak*, *H. vulgare* cv. *İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının pigment miktarına (A: Klorofil-a, B: Klorofil-b, C: karotenoid, D: Toplam klorofili) etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

Şekil 32'nin devamı



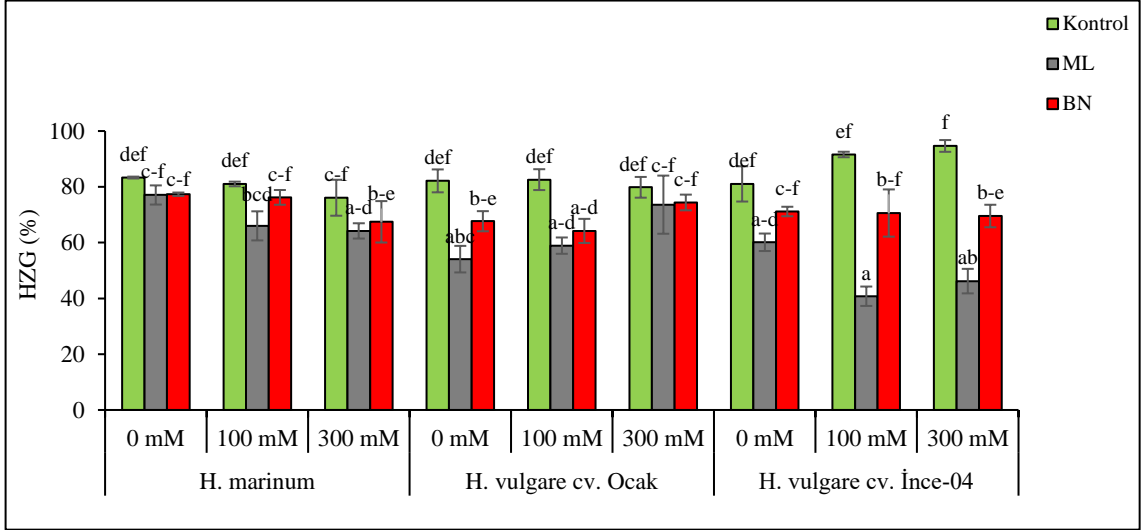
Şekil 32. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının pigment miktarına (A: Klorofil-a, B: Klorofil-b, C: karotenoid, D: Toplam klorofi) etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.4.3. Hücre Zarı Geçirgenliği (HZG)

H. marinum' da ML inokülasyonunun artan tuz stresine paralel şekilde HZG'yi sırasıyla %7, %19 ve %16 azalttığı belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise bu türde HZG'yi yine sırasıyla %7, %6 ve %11 azaltmıştır.

Tuza dayanıklı *Ocak* çeşidinde 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarında ML inokülasyonu ile HZG miktarı kontrole kıyasla sırasıyla %34, %29 ve %8 azalmıştır. Diğer yandan BN inokülasyonu 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarında HZG'yi kontrole kıyasla sırasıyla %18, %22 ve %7 azaltmıştır.

Tuza hassas *İnce-04* çeşidinde ML inokülasyonu 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarında HZG'yi kontrole kıyasla sırasıyla %26, %55 ve %51 azaltmıştır. Benzer şekilde BN inokülasyonu da 0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl gruplarında HZG'yi kontrole kıyasla sırasıyla %12, %23 ve %27 azalttığı belirlenmiştir (Şekil 33).



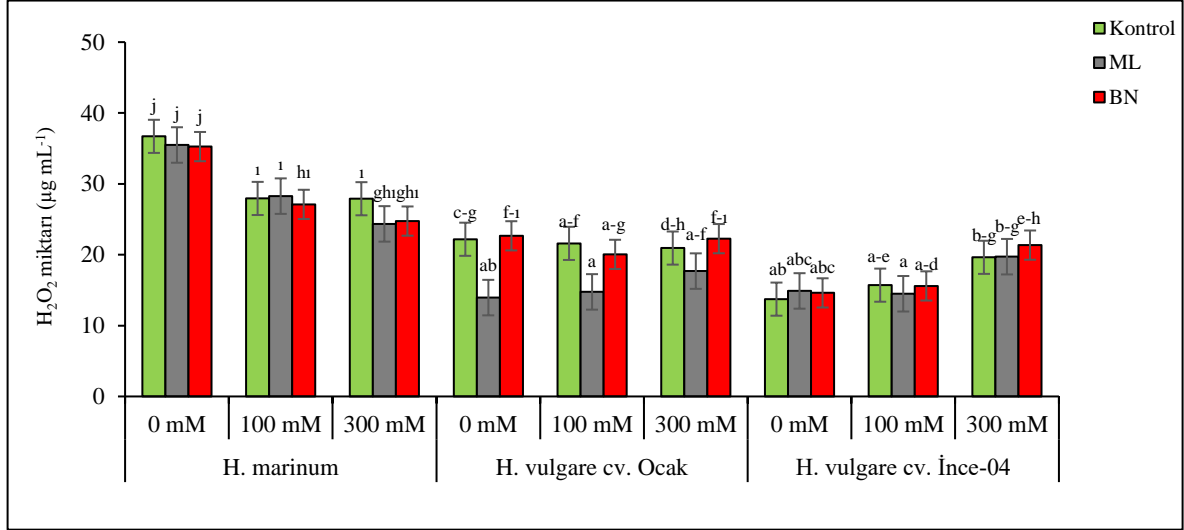
Şekil 33. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının hücre zarı geçirgenliğine etkisi (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.4.4. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

H. marinum'da artan tuz stresi konsantrasyonuna paralel şekilde H₂O₂ miktarının azaldığı belirlenmiştir. Özellikle 0 mM NaCl grubunda her iki bakteri uygulaması ile H₂O₂ miktarı azalırken, 300 mM NaCl grubunda ise ML ve BN uygulamaları ile kontrole kıyasla sırasıyla %12 ve %13 azalmıştır. Bununla birlikte, bakteri inokülasyonları her bir tuz stresi grubu içerisinde kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir.

Ocak çeşidinde H₂O₂ miktarı ML inokülasyonu ile artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde sırasıyla %37, %32 ve %16 azalmıştır. Diğer yandan BN inokülasyonu ise tüm tuz stresi gruplarında kontrole kıyasla anlamlı bir değişime sahip bulunmamıştır.

Tuza hassas *İnce-04* çeşidinde ise her iki bakteri inokülasyonu ile H₂O₂ miktarını kontrole kıyasla anlamlı şekilde değiştirmedikleri saptanmıştır (Şekil 34).



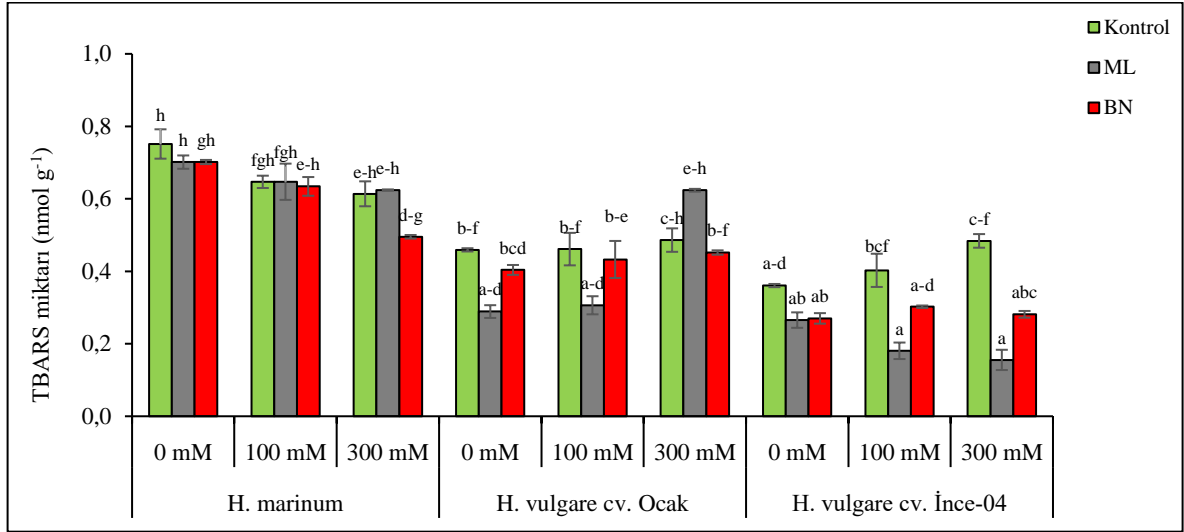
Şekil 34. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. maritimum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarına etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini (p<0.05) ifade etmektedir).

4.4.5. Lipit Peroksidasyon Miktarı (TBARS)

H. maritimum'da TBARS miktarının 0 ve 100 mM NaCl gruplarında her iki bakteri inokülasyonu ile kontrole kıyasla anlamlı bir değişim göstermediği belirlenmiştir. Bunlardan farklı olarak 300 mM NaCl grubunda ise sadece BN inokülasyonu lipit peroksidasyonu %20 azaltmıştır.

Ocak çeşidinde ise ML inokülasyonu 0 ve 100 mM NaCl gruplarında lipit peroksidasyon miktarını kontrole kıyasla sırasıyla %37 ve %34 azaltmıştır. Şaşırtıcı şekilde, 300 mM NaCl grubunda ise %28 artmıştır. Diğer yandan, BN inokülasyonu ile TBARS miktarını artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde sırasıyla %12, %6 ve %7 azaltmıştır.

Tuza duyarlı *İnce-04* çeşidinde her iki bakteri inokülasyonu ile TBARS miktarı tüm tuz stresi gruplarında azalmıştır. Buna göre, ML inokülasyonu ile lipit peroksidasyon artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde sırasıyla %26, %55 ve %68 olarak belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise lipit peroksidasyonu 0 ve 100 mM NaCl gruplarında %25, 300 mM NaCl grubunda ise %42 azaltmıştır (Şekil 35).



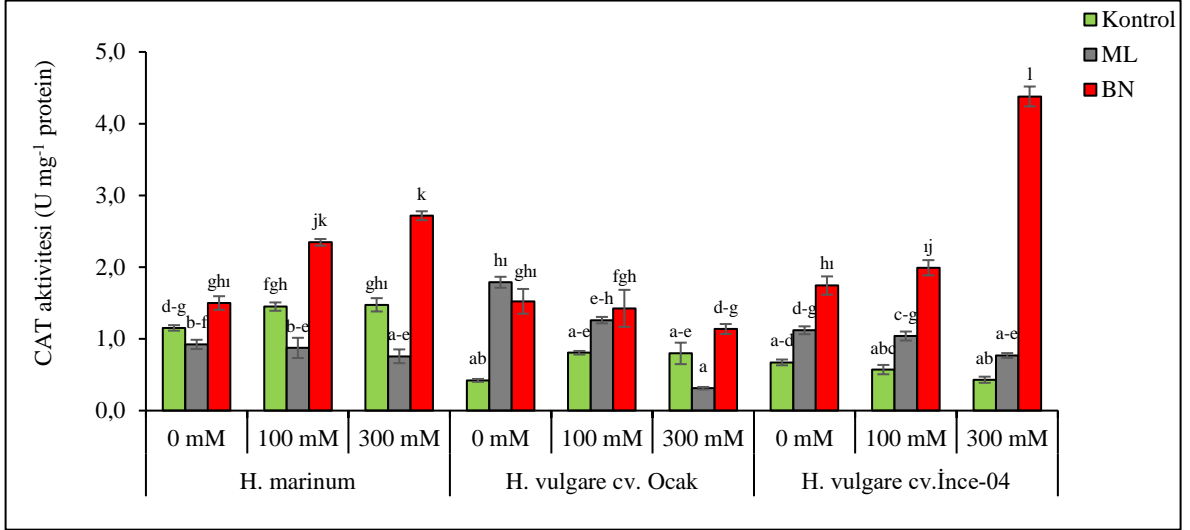
Şekil 35. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının lipit peroksidasyon (TBARS) miktarına etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.4.6. Katalaz Aktivitesi (CAT; EC 1.11.1.6)

CAT aktivitesi *H. marinum*'da ML inokülasyonu ile kontrole kıyasla artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde sırasıyla %20, %40 ve %49 azalmıştır. BN inokülasyonu ise CAT aktivitesini artan tuz stresiyle kademeli şekilde sırasıyla %30, %62 ve %84 arttırmıştır.

ML inokülasyonu *Ocak* çeşidinde CAT aktivitesini sadece 0 ve 100 mM NaCl gruplarında sırasıyla 3,2 kat ve %54 arttırmasına rağmen 300 mM NaCl grubunda %61 azalttığı belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında CAT aktivitesini sırasıyla 2.61 kat, %71 ve %43 arttırmıştır.

İnce-04 çeşidinde her iki bakteri inokülasyonu CAT aktivitesini dramatik şekilde arttırmıştır. Buna göre ML inokülasyonu 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında kontrole kıyasla CAT aktivitesini sırasıyla % 67, % 82 ve % 48 arttırmıştır. BN inokülasyonu ise kontrole kıyasla CAT aktivitelerini artan tuz konsantrasyonlarıyla çarpıcı şekilde 1.6 kat, 2.5 kat ve 9.1 kat arttırmıştır (Şekil 36).



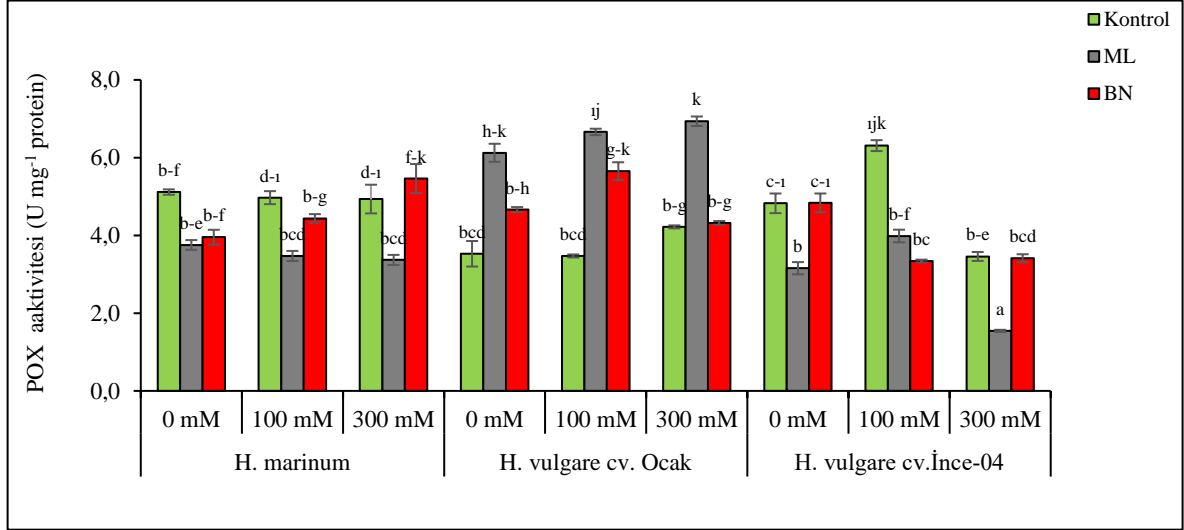
Şekil 36. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının katalaz aktivitesi (CAT) üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

4.4.7. Peroksidaz Aktivitesi (POX; EC 1.11.1.7)

ML inokülasyonu POX aktivitesini *H. marinum*'da 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında kontrole kıyasla sırasıyla %27, %30 ve %32 azaltmıştır. Benzer şekilde BN inokülasyonu ise 0 ve 100 mM NaCl gruplarında sırasıyla %23 ve %11 azaltmıştır. Ancak 300 mM NaCl grubunda POX aktivitesini %11 arttırmıştır.

Ocak çeşidinde ML inokülasyonu POX aktiviteleri tüm tuz konsantrasyonlarında kontrole kıyasla güçlü şekilde artmıştır. Buna göre 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarındaki artış sırasıyla % 74, % 92 ve % 65'tir. BN inokülasyonu ise POX aktivitelerini sırasıyla %32, %63 ve %3 arttırmıştır.

Diğerlerinin tersine, tuza hassas *İnce-04*'te ise ML inokülasyonu tüm tuz konsantrasyonlarında kontrole kıyasla azalmıştır. Buna göre, 0, 100 ve 300 mM NaCl gruplarındaki azalma sırasıyla % 35, %37 ve %55'tir. BN inokülasyonu ise sadece 100 ml grubunda POX aktivitesini %47 azaltmıştır. Diğer tuz konsantrasyonlarında ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir (Şekil 37).



Şekil 37. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının peroksidaz aktivitesi üzerine etkileri (Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir).

Ek olarak, tez çalışmasında var olan kloroplast izolasyonu analizi doku yetersizliği nedeniyle, analiz gerçekleştirilmiş olmasına rağmen başarılı bir sonuç elde edilememiştir. Bu nedenle tez çalışmasında sunulacak veriler elde edilememiştir.

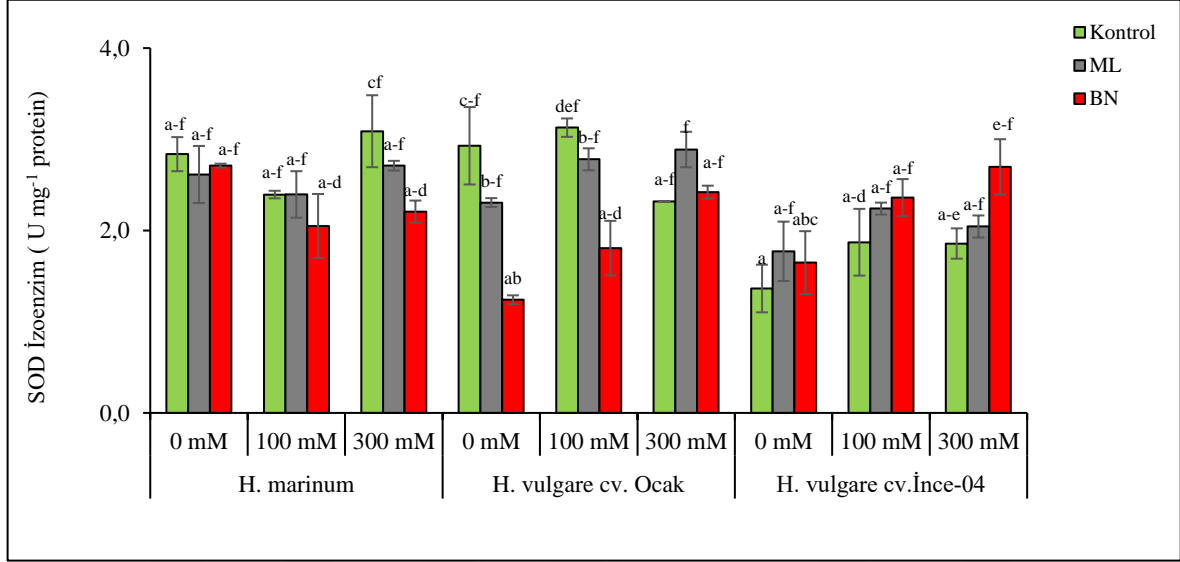
4.5. İzoenzim Profilleri

4.5.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) İzoenzim Profili

Tuz stresi altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak* ve *H. vulgare cv. İnce-04*) ML ve BN inokülasyonu ile total SOD aktivitesi elektroforetik yöntem ile belirlenmiştir. Buna göre *H. marinum*'da kontrol grubunda SOD aktivitesi özellikle 300 mM NaCl ile %9 artmıştır. ML ve BN inokülasyonu ile SOD aktivitesini özellikle 300 mM NaCl ile kontrole kıyasla %12 ve %28 azalmıştır.

Ocak çeşidinde ML inokülasyonu SOD aktivitesinin artan tuz stresi ile artarken özellikle bu artış kontrolüne kıyasla 300 mM NaCl' de %24 belirlenmiştir. BN inokülasyonu ise 100 ve 300 mM NaCl ile SOD aktivitesini 0 mM kıyasla sırasıyla %45 ve %95 arttırmıştır.

İnce-04 çeşidinde her iki bakteri inokülasyonu SOD aktivitesini dramatik şekilde arttırmıştır. Buna göre ML inokülasyonu 0, 100 ve 300 mM NaCl ile kontrole kıyasla SOD aktivitesini sırasıyla % 30, % 20 ve % 10 arttırmıştır. BN inokülasyonu ise kontrole kıyasla SOD aktivitelerini artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde %21, %26 ve %45 arttırmıştır (Şekil 38 ve Şekil 39).



Şekil 38. Tuz stresi (0 mM, 100 ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının SOD izoenzim aktivitesine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

Tuz stresi altındaki arpa türlerine ML ve BN inokülasyonu ile SOD izoenzimlerinin seviyeleri incelendiğinde *H. marinum* ve *H. vulgare cv. Ocak*'ta SOD1 ve SOD2 izoenzimi belirlenirken *H. vulgare cv. İnce-04* çeşidinde ise en yoğun bant sadece SOD2 izoenzimi olduğu tespit edilmiştir (Tablo 18). *H. marinum*'da 300 mM NaCl'de SOD1, SOD2 sırasıyla %77,9, %275,4 oranında belirlenirken BN inokülasyonu ile 300 mM NaCl'de SOD1, SOD2 sırasıyla %172,9 %166,9 oranında belirlenmiştir. Ek olarak *H. marinum*'da SOD1 kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de 2.1 kat arttığı tespit edilmiştir. *Ocak* çeşidinde ML inokülasyonu ile 0 mM NaCl'de SOD1, SOD2 sırasıyla %108,9, %158,4 oranında belirlenirken 300 mM NaCl'de SOD1, SOD2 sırasıyla %115,5, %309,8 olarak belirlenmiştir. Ek olarak *Ocak*

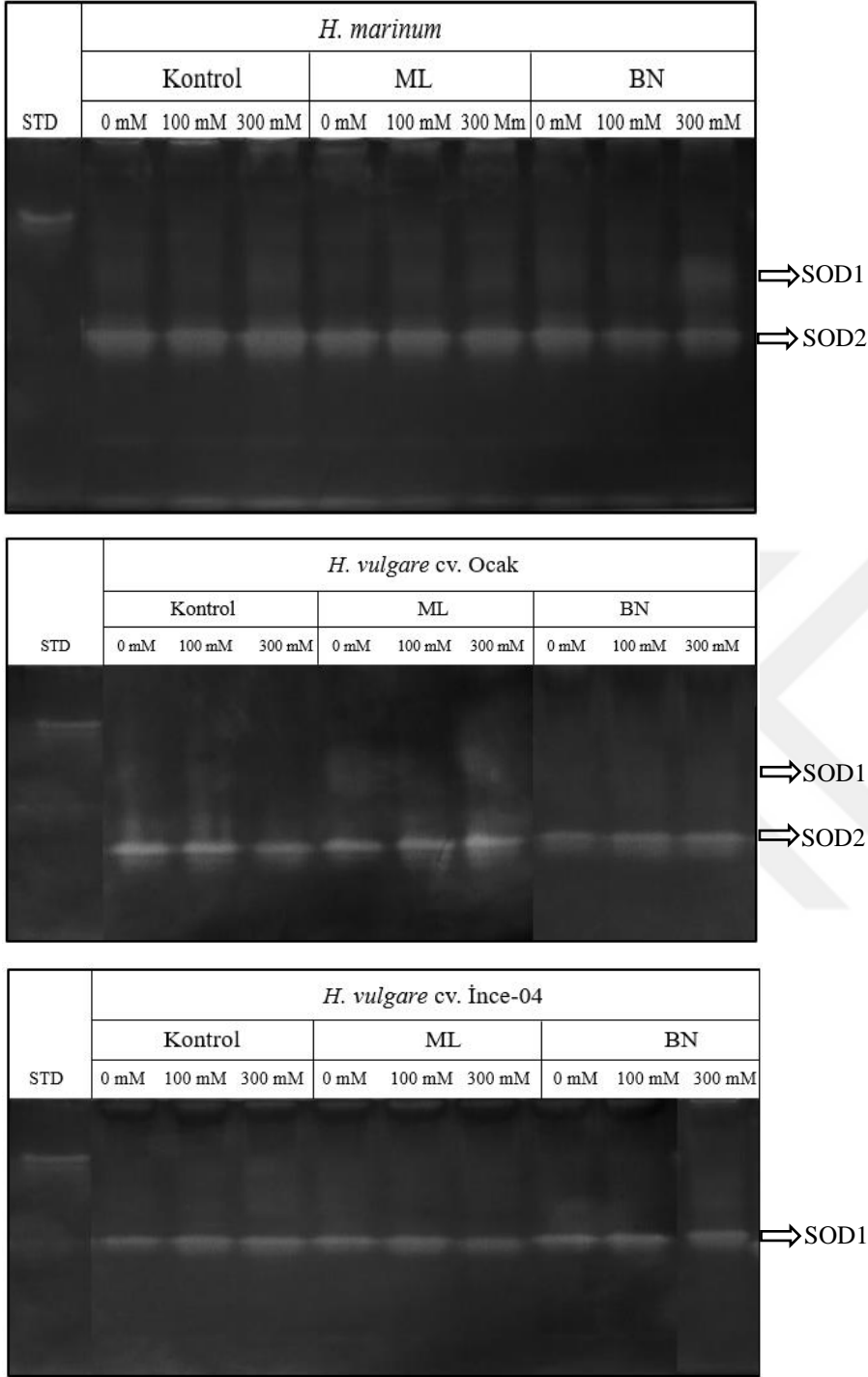
çeşidinde SOD2 izoenzimi kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de 4 kat artış tespit edilmiştir. *İnce-04* çeşidinde ise SOD2 izoenzimi kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de %136,2, ML inokülasyonu ile %149,8 ve BN inokülasyonunda ise bu değer %197,8 olduğu tespit edilmiştir. Ek olarak *İnce-04*'te bu artışlar özelliikle kontrole kıyasla ML inokülasyonu ile %10, BN inokülasyonu ile %45 olduğu tespit edilmiştir (Şekil 40, Tablo 18).

Tablo 18

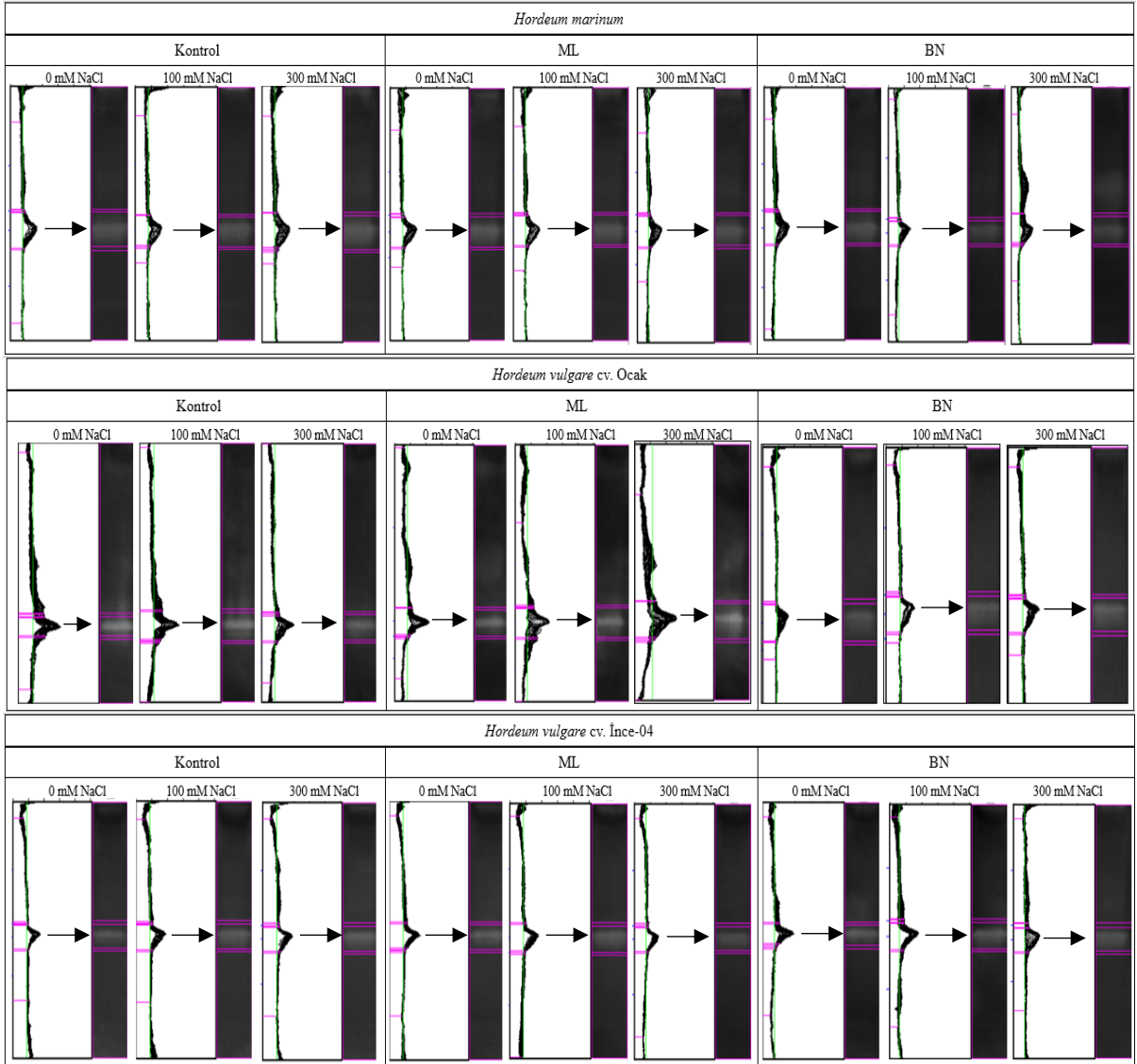
H. marinum ve *H. vulgare* türlerinde SOD izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler

Çeşit	Grup	NaCl	SOD1	SOD2
<i>H. marinum</i>	Kontrol	0 mM	100	100
		100 mM	nd	84,4±4,13
		300 mM	77,9±7,84	275,4±18,49
	ML	0 mM	nd	92,1±31,30
		100 mM	nd	84,4±25,52
		300 mM	nd	95,5±5,31
	BN	0 mM	nd	95,5±2,20
		100 mM	nd	72,3±35,02
		300 mM	172,9±7,83	166,9±7,68
<i>H. vulgare</i> cv. Ocak	Kontrol	0 mM	100	100
		100 mM	nd	106,8±10,10
		300 mM	nd	79,2±0,21
	ML	0 mM	108,9±10,28	158,4±2,41
		100 mM	nd	94,9±12,07
		300 mM	115,5±9,81	309,8±18,22
	BN	0 mM	nd	42,4±4,82
		100 mM	nd	61,8±29,89
		300 mM	nd	82,7±7,07
<i>H. vulgare</i> cv. İnce-04	Kontrol	0 mM	nd	100
		100 mM	nd	137,2±36,60
		300 mM	nd	136,2±16,83
	ML	0 mM	nd	129,9±32,55
		100 mM	nd	164,2±6,58
		300 mM	nd	149,8±12,12
	BN	0 mM	nd	120,8±34,56
		100 mM	nd	173,0±20,35
		300 mM	nd	197,8±30,32

nd: tespit edilmemiş, sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 39. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının SOD izoenzim jel görüntüleri (Her kuyucuk 45 µg/µL protein içermektedir. STD: 1 U bovine karaciğeri SOD standartı).



Şekil 40. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. Ocak, *H. vulgare* cv. İnce-04) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının SOD izoenzim profilleri.

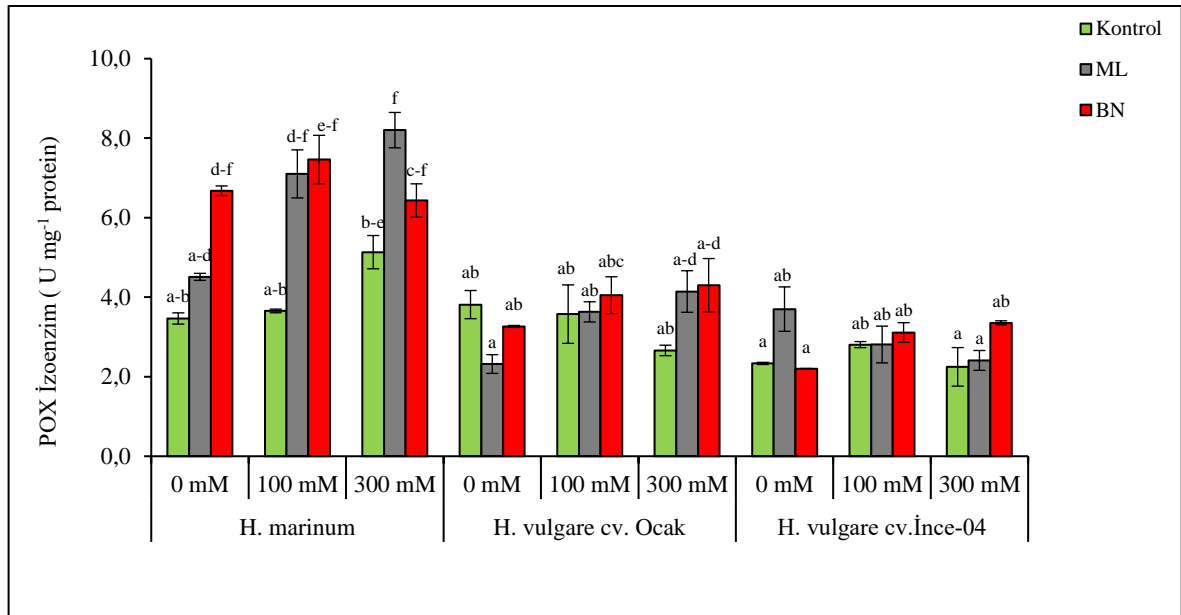
4.5.2. Peroksidaz (POX) İzoenzim Profili

ML inokülasyonu POX aktivitesini *H. marinum*'da 0, 100 ve 300 mM NaCl ile kontrole kıyasla sırasıyla %30, %94 ve %60 artmıştır. Benzer şekilde BN inokülasyonu ise 0 ve 100 mM NaCl gruplarında sırasıyla %93, %104 ve %25 artmıştır.

Ocak çeşidinde ML inokülasyonu ile POX aktiviteleri 0 mM NaCl ile %39 azalırken, 100 mM NaCl'de değişmemiş ancak 300 mM ile %56 artmıştır. Benzer şekilde, BN

inokülasyonu ise POX aktivitelerini 0 mM NaCl grubunda %14 azaltırken, 100 ve 300 mM NaCl gruplarında sırasıyla %13 ve %62 arttırmıştır.

Tuza hassas *İnce-04*'te ise ML inokülasyonu 0 mM NaCl grubundaki %58 artışa rağmen diğer tuz konsantrasyonlarında anlamlı bir değişim göstermemiştir. Buna zıt şekilde, BN inokülasyonu ise sadece 100 ve 300 mM NaCl ile POX aktivitelerini sırasıyla %11 ve %49 arttırmıştır (Şekil 41 ve Şekil 42).



Şekil 41. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının POX izoenzim aktivitesine etkisi. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

Tuz stresi altındaki arpa türlerine ML ve BN inokülasyonu ile POX izoenzimlerinin seviyeleri incelendiğinde *H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak* ve *H. vulgare cv. İnce-04* çeşitlerinde sırasıyla POX1, POX2, POX3 ve POX4 belirlenmiştir (Tablo 19). *H. marinum*'da 300 mM NaCl'de POX1, POX2, POX3 ve POX4 sırasıyla %67,8, %181,4, %192,5 ve %255,9 oranında, ML inokülasyonu ile POX1, POX3, POX4 sırasıyla %112,6 %302,6 ve %316,8 oranında ve BN inokülasyonu ile 300 mM NaCl'de ise POX1, POX2, POX3 sırasıyla %153,4, %218,0, %200,6 oranında belirlenmiştir. Özellikle *H. marinum*'da

kontrole kıyasla 100 mM NaCl'de POX1 %65, POX3 %57 ve POX4 %23 artış tespit edilmiştir. Diğer yandan *H. marinum*'da en yoğun bant POX1 kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de 2.2 kat arttığı tespit edilmiştir. Ek olarak *H. marinum*'da 300 mM NaCl'de kontrole kıyasla POX1 ve POX3 her iki bakteri inokülasyonunda çalışığı belirlenmiştir.

Ocak çeşidinde 300 mM NaCl'de POX2, POX3 ve POX4 sırasıyla %49,5, %93,6 ve %104,2 oranında belirlenirken ML inokülasyonu ile 300 mM NaCl'de POX2, POX3 ve POX4 sırasıyla %65,8, %129,1 ve %131,5 olarak belirlenmiştir. Ek olarak *Ocak* çeşidinde hem ML inokülasyonu hem de BN inokülasyonu ile POX2 izoenzimi kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de sırasıyla %32 ve %35 arttığı tespit edilmiştir.

İnce-04 çeşidinde 300 mM NaCl'de POX1, POX3 ve POX4 sırasıyla %94,7, %41,6 ve %164 oranında belirlenirken ML inokülasyonu ile sırasıyla %141,1, %96,3 ve %222 oranında, BN inokülasyonunda ise sırasıyla %144,9, %380,3 ve %271,4 olarak belirlenmiştir. Ek olarak *İnce-04* çeşidinde POX1, POX3 ve POX4 izoenzimi kontrole kıyasla 300 mM NaCl'de hem ML inokülasyonu ile sırasıyla 1.3, 2.3 ve 1.4 kat arttığı hem de BN inokülasyonu ile sırasıyla 1.6, 2.2 ve 1.5 kat arttığı tespit edilmiştir. (Şekil 43, Tablo 19).

Tablo 19

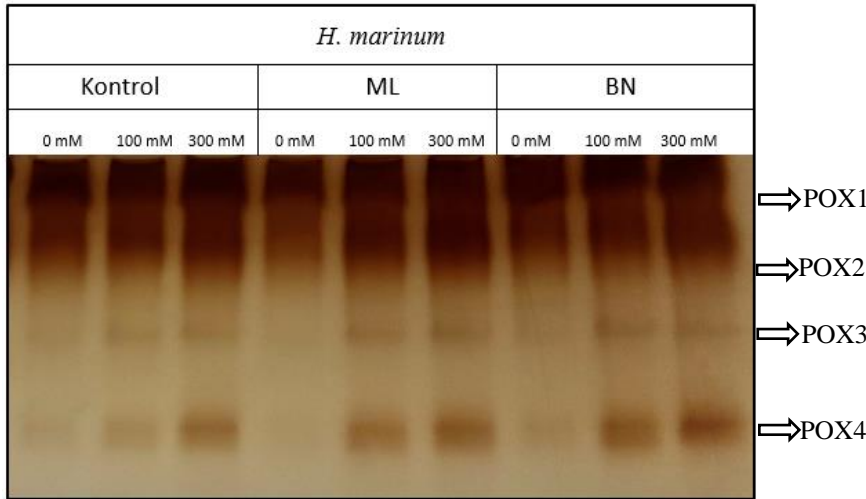
H. marinum ve *H. vulgare* türlerinde POX izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler

Çeşit	Grup	NaCl	POX1	POX2	POX3	POX4
<i>H. marinum</i>	Kontrol	0 mM	100	100	100	100
		100 mM	77,3±3,7	118,0±8,1	197,0±0,6	111,2±12,1
		300 mM	67,8±7,6	181,4±37,4	192,4±18,6	255,9±8,7
	ML	0 mM	92,0±12,5	128,6±18,4	262,5±41,8	124,2±4,9
		100 mM	150,7±31,3	159,7±6,9	180,7±1,6	220,7±21,3
		300 mM	112,5±18,3	145,8±22,0	302,5±36,7	316,8±35,2
	BN	0 mM	114,6±11,8	216,7±8,7	223,6±16,8	228,4±20,9
		100 mM	109,3±14,6	187,4±2,0	199,3±7,7	273,9±52,0
		300 mM	153,4±33,9	218,0±22,0	200,6±19,9	207,4±11,6

Tablo 19'un devamı

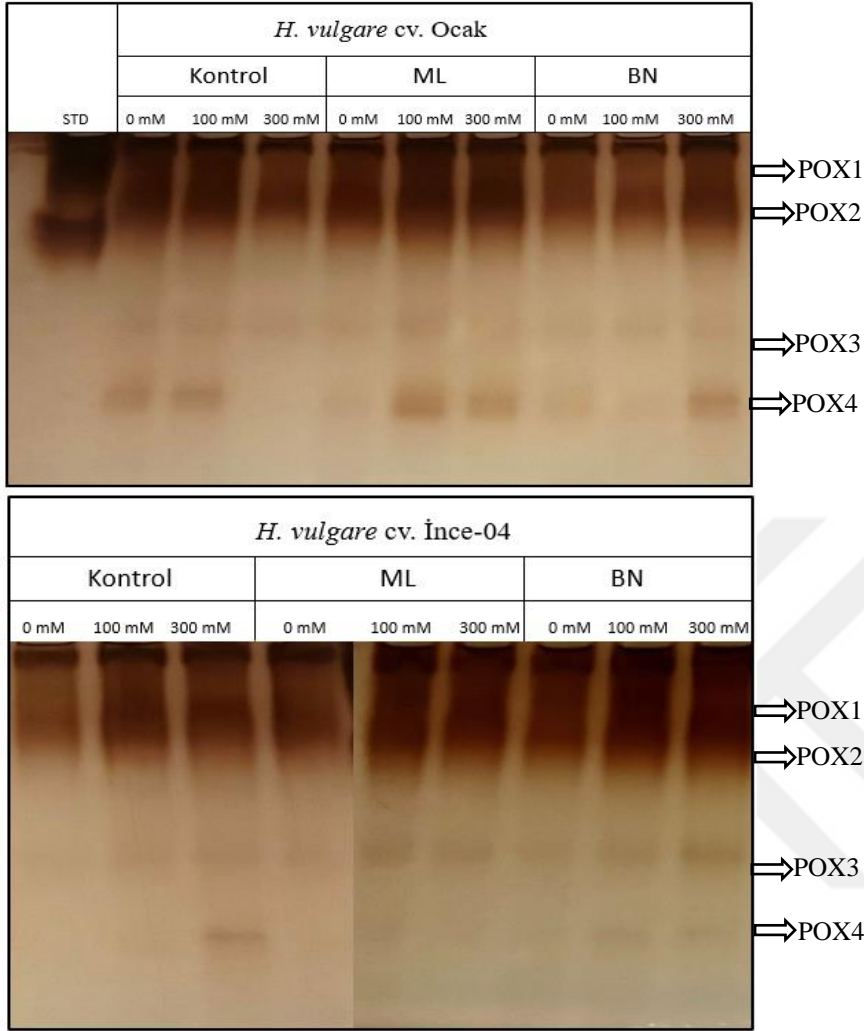
<i>H. vulgare</i> cv. Ocak	Kontrol	0 mM	100	100	100	100
		100 mM	32,8±15,0	82,4±6,5	118,6±55,0	106,7±9,1
		300 mM	34,2±22,5	49,4±11,2	93,6±25,6	104,2±7,1
	ML	0 mM	31,6±12,1	54,6±4,4	74,8±30,9	96,7±17,6
		100 mM	31,0±2,1	60,4±4,5	116,6±72,5	144,4±21,7
		300 mM	30,7±12,0	65,7±10,5	129,1±73,9	131,4±11,1
	BN	0 mM	45,7±26,6	54,0±17,2	68,1±32,4	106,9±5,4
		100 mM	45,1±72,3	24,7±9,9	111,9±68,5	74,0±5,3
		300 mM	42,5±37,2	66,8±16,6	82,7±21,4	93,3±9,6
<i>H. vulgare</i> cv. İnce-04	Kontrol	0 mM	100	100	100	100
		100 mM	66,8±5,8	225,8±7,8	101,5±26,5	227,2±11,5
		300 mM	94,7±15,0	308,5±10,1	41,6±3,4	164,0±8,4
	ML	0 mM	175,9±37,3	598,5±38,0	140,1±45,4	199,7±4,6
		100 mM	171,7±30,3	476,7±23,2	88,4±13,9	210,8±1,5
		300 mM	141,0±12,1	275,8±6,1	96,2±8,4	221,9±11,9
	BN	0 mM	153,0±9,0	190,1±5,8	77,9±12,3	163,5±12,2
		100 mM	177,0±1,1	454,0±7,7	84,4±14,2	193,2±6,2
		300 mM	144,8±1,9	380,3±0,8	95,0±28,1	271,4±15,8

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.

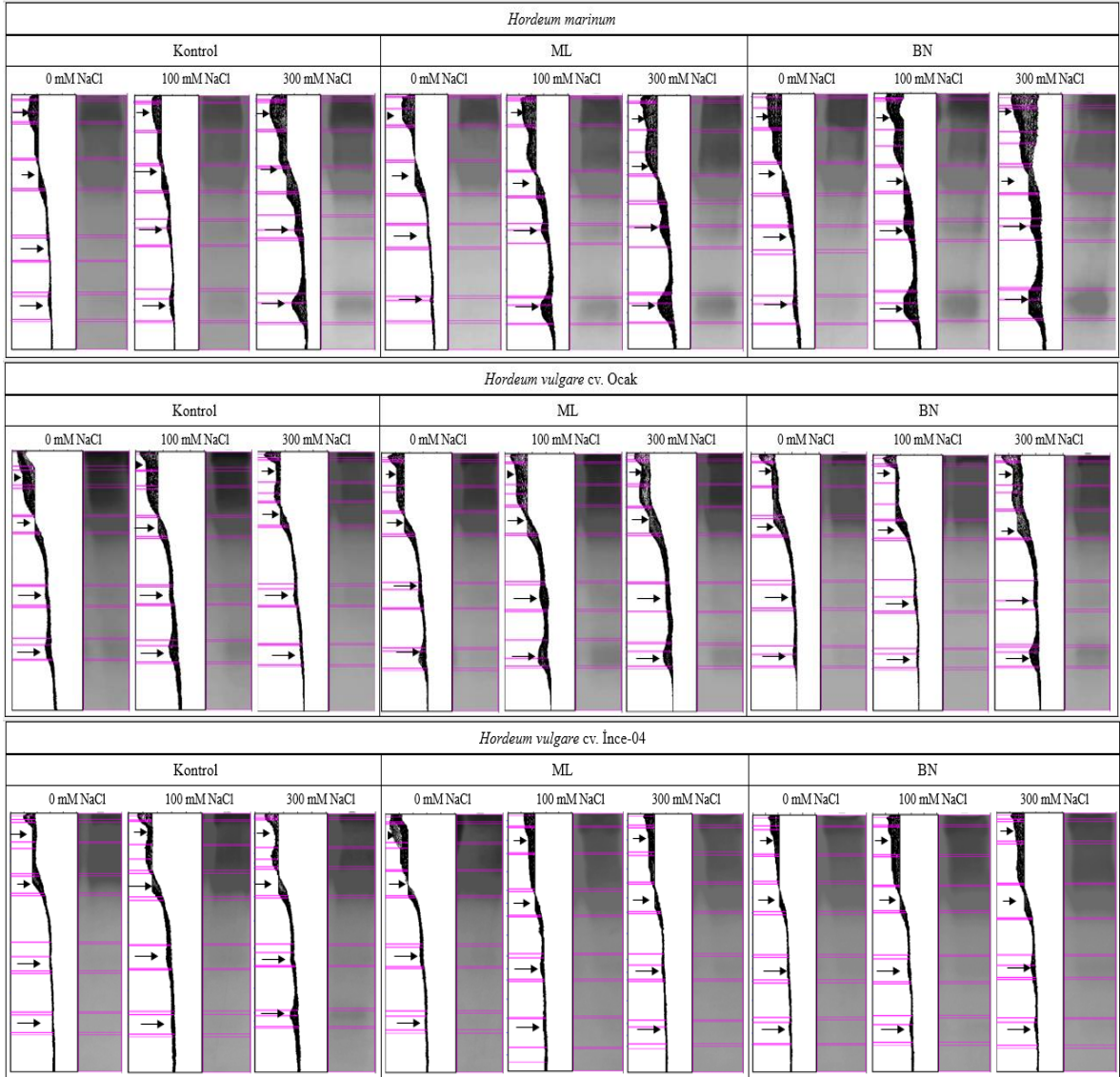


Şekil 42. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. Ocak, *H. vulgare* cv. İnce-04) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının POX izoenzim jel görüntüleri (STD: 1 U POX standartı).

Şekil 42'nin devamı



Şekil 42. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. *Ocak*, *H. vulgare* cv. *İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının POX izoenzim jel görüntüleri (STD: 1 U POX standartı).

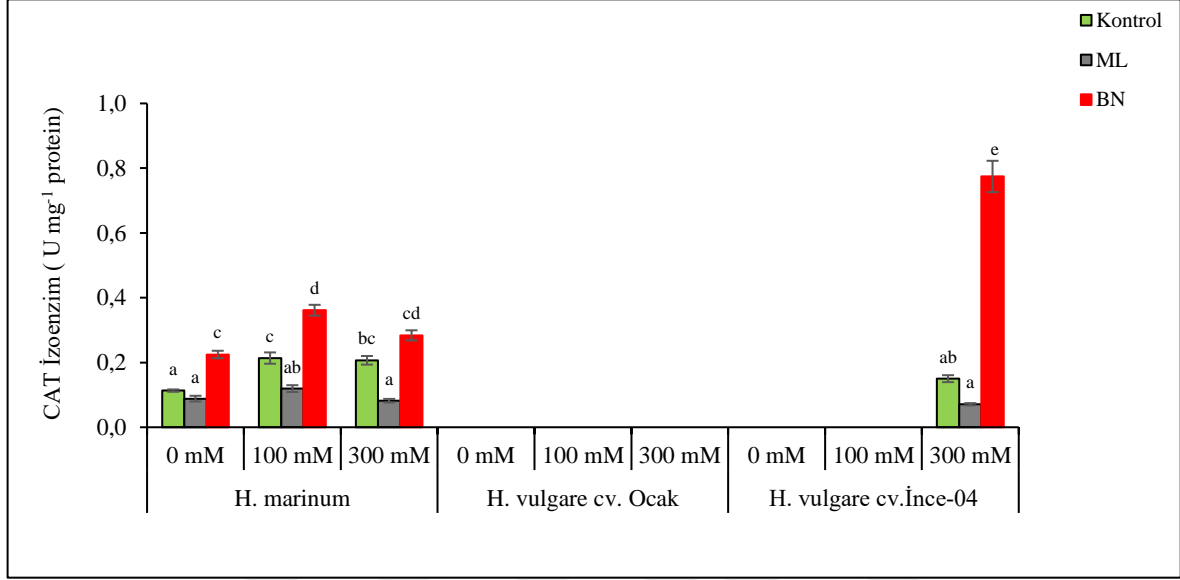


Şekil 43. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare* cv. *Ocak*, *H. vulgare* cv. *İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının POX izoenzim profilleri.

4.5.3. Katalaz (CAT) İzoenzim Profili

ML inokülasyonu *H. marinum*'da artan tuz konsantrasyonlarına paralel şekilde CAT aktivitesini 0, 100 ve 300 mM NaCl ile sırasıyla %22, %44 ve %60 azaltmıştır. Buna zıt şekilde BN inokülasyonu ise CAT aktivitesini artan tuz stresiyle kademeli şekilde sırasıyla %99, %69 ve %37 arttırmıştır. *Ocak* çeşidinde CAT aktivitesi protein yetersizliği nedeni ile tespit edilememiştir.

İnce-04 çeşidinde CAT aktivitesi 0-100 mM NaCl gruplarında belirlenemezken, BN inokülasyonu ile CAT aktivitesi kontrole kıyasla 100 mM NaCl’de % 53 azalan aktivitenin 300 mM NaCl ile 5.1 kat arttığı belirlenmiştir. (Şekil 44, Şekil 45).



Şekil 44. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının CAT izoenzim aktivitesine (A) etkisi ve jel görüntüsü (B) . Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Grafik üzerinde yer alan harfler ortalamalar arasındaki anlamlılık düzeyini ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

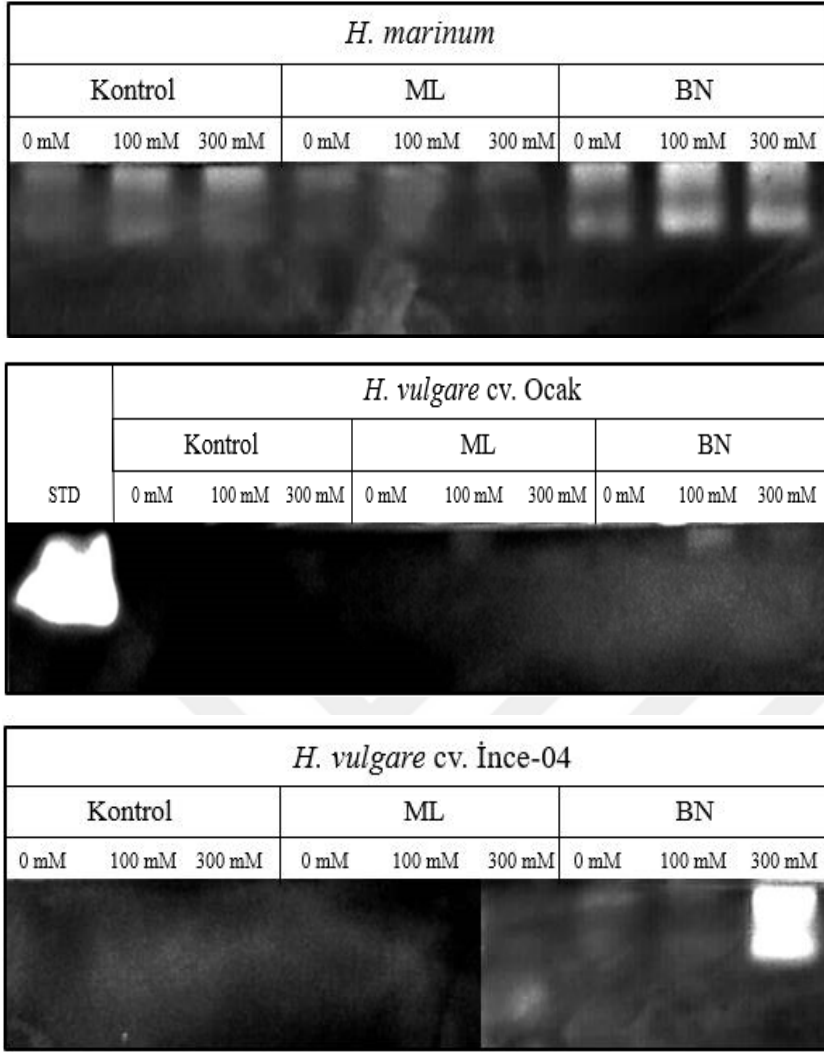
Tuz stresi altındaki arpa türlerine ML ve BN inokülasyonu ile CAT izoenzimlerinin seviyeleri incelendiğinde *H. marinum* ve *H. vulgare cv. İnce-04* çeşidinde CAT izoenzimi belirlenmiştir (Tablo 20). Diğer yandan *Ocak* çeşidinde protein miktarı yeterli olmadığından dolayı CAT izoenzim bantları belirgin olarak tespit edilememiştir. Ek olarak *İnce-04* çeşidinde de kontrol ve ML gruplarında CAT izoenzimi belirlenemezken, BN inokülasyonunda artan tuz konsantrasyonu ile sırasıyla %111,4, %71,1 ve %510,9 olarak tespit edilmiştir. Özellikle 300 mM NaCl’de kontrole kıyasla 4.6 kat arttığı belirlenmiştir. Diğer yandan *H. marinum*’da CAT izoenzimi özellikle 100 mM NaCl’de kontrol grubunda %183,7, ML inokülasyonu ile %102,9 ve BN inokülasyonu ile %312,3 olduğu belirlenmiştir. Ek olarak *H. marinum*’da CAT izoenzimi kontrole kıyasla 300 NaCl’de yaklaşık 2 kat arttığı belirlenmiştir (Şekil 45, Tablo 20).

Tablo 20

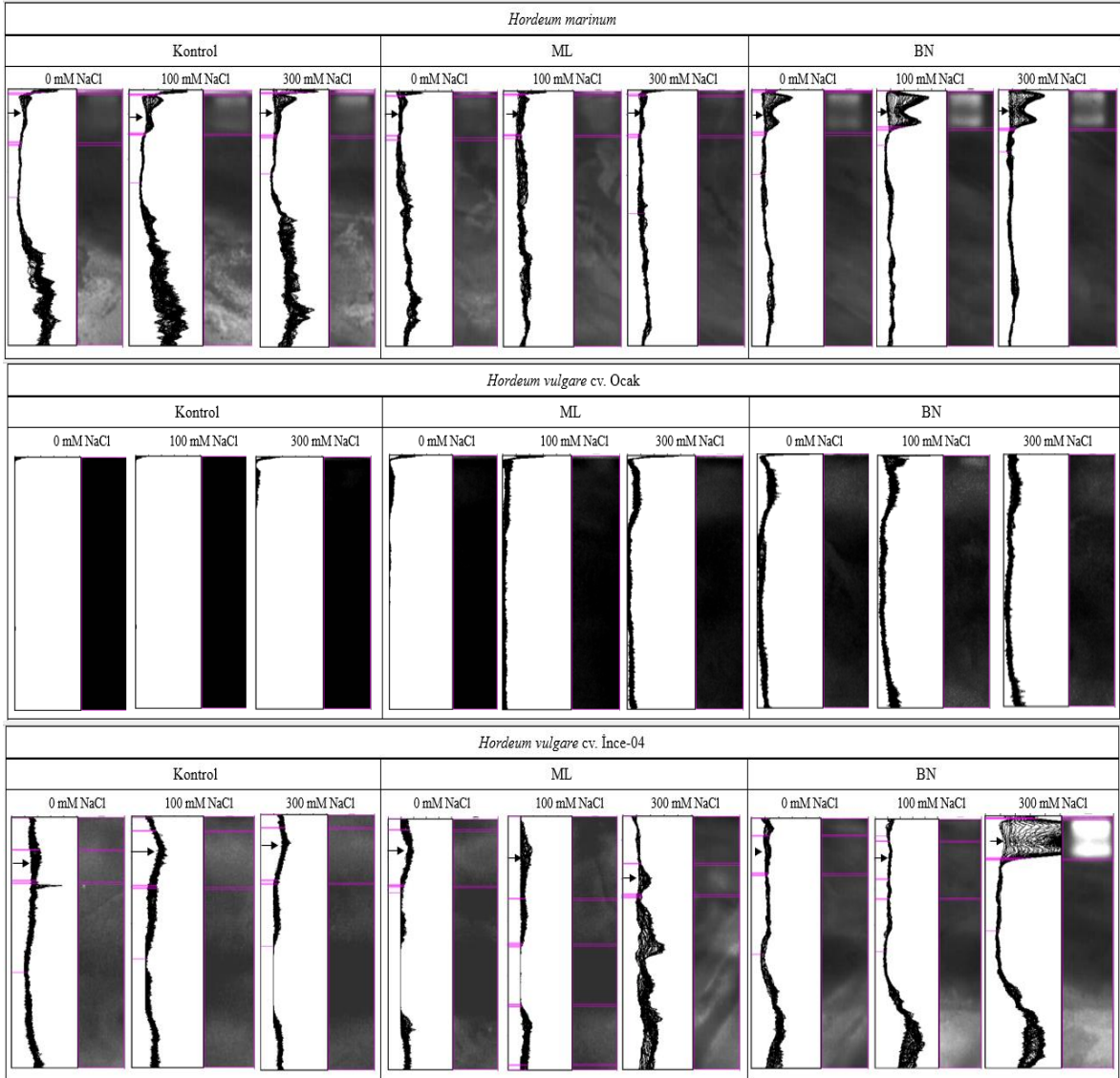
H. marinum ve *H. vulgare* türlerinde CAT izoenzimlerinin aktivitesinde meydana gelen (yüzde) değişimler

Çeşit	Grup	NaCl	CAT
<i>H. marinum</i>	Kontrol	0 mM	100
		100 mM	183,7±0,4
		300 mM	178,3±0,5
	ML	0 mM	75,9±0,5
		100 mM	102,9±0,7
		300 mM	70,7±0,04
	BN	0 mM	194,4±1,0
		100 mM	312,3±0,7
		300 mM	246,0±1,8
<i>H. vulgare</i> cv. Ocak	Kontrol	0 mM	100
		100 mM	nd
		300 mM	nd
	ML	0 mM	nd
		100 mM	nd
		300 mM	nd
	BN	0 mM	nd
		100 mM	nd
		300 mM	nd
<i>H. vulgare</i> cv. İnce-04	Kontrol	0 mM	100
		100 mM	nd
		300 mM	nd
	ML	0 mM	nd
		100 mM	nd
		300 mM	nd
	BN	0 mM	111,4±1,0
		100 mM	71,1±0,3
		300 mM	510,9±23,0

nd: tespit edilmemiş, sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 45. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının CAT izoenzim jel görüntüleri (STD: 1 U bovine karaciğeri CAT standartı).



Şekil 46. Tuz stresi (0 mM, 100 mM ve 300 mM NaCl) altındaki arpa türlerine (*H. marinum*, *H. vulgare cv. Ocak*, *H. vulgare cv. İnce-04*) ML (*Micrococcus luteus*) ve BN (*Bacillus nealsonii*) uygulamalarının CAT izoenzim profilleri.

Tablo 21’de arpa türlerinin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyon matrisi gösterilmiştir. GU’nun KU ($r= 0.896$, $p<0.01$), BK ($r= 0.879$, $p<0.01$), YA ($r= 0.934$, $p<0.01$) ve KA ($r= 0.899$, $p<0.01$) ile pozitif korelasyonu bulunurken, H_2O_2 ($r= -0.775$, $p<0.01$), HZG ($r= -0.263$, $p<0.01$) ve TBARS ($r= -0.806$, $p<0.01$) ile negatif korelasyon bulunmuştur. Benzer şekilde KU’nun BK ($r= 0.911$, $p<0.01$), YA ($r= 0.883$, $p<0.01$) ve KU ($r= 0.907$, $p<0.01$) ile pozitif korelasyonu bulunurken, H_2O_2 ($r= -0.800$, $p<0.01$), HZG ($r= -0.306$, $p<0.01$) ve TBARS ($r= -0.816$, $p<0.01$) ile negatif korelasyon olduğunu belirlenmiştir. Ek olarak BK, YA ve KU da benzer korelasyon ilişkisi tespit

edilmiştir (Tablo 19). Ancak Kla, Klb, Tkl ve Kar değişkenleri birbiriyle pozitif korelasyon gösterirken diğer parametrelerde önemli ilişki olmadığı belirlenmiştir. Ancak sadece Tkl ve Kar'ın SOD-izo ($r=0.595$, $r=0.353$ $p<0.01$) ile pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan POX aktivitesi H_2O_2 ($r= -0.257$, $p<0.05$) ve HZG ($r= -0.150$, $p<0.05$) ile negatif korelasyon olduğunu, CAT aktivitesinin ise CAT izoenzimi ile ($r= 0.502$, $p<0.05$) pozitif korelasyon olduğu bulunmuştur.

Tablo 21

H. marinum ve *H. vulgare* türlerinde fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin korelasyon matrisi

	GU	KU	BK	YA	KA	Pro	Kl-a	Kl-b	T-Kl	Kar	POX	CAT	SOD-İzo	POX-İzo	CAT-İzo	H_2O_2	HZG	TBARS	
GU	1																		
KU	,896**	1																	
BK	,879**	,911**	1																
YA	,934**	,883**	,915**	1															
KA	,899**	,907**	,930**	,943**	1														
Pro	-,811**	-,710**	-,685**	-,817**	-,794**	1													
Kl-a	-0,114	-0,098	-0,040	-0,099	-0,069	0,053	1												
Kl-b	0,023	0,005	0,095	0,056	0,063	-,148*	,686**	1											
T-Kl	-0,049	-0,066	-0,019	-0,016	0,011	-0,158	,982**	,875**	1										
Kar	-0,122	-,126*	-0,042	-0,088	-0,088	0,027	,946**	,849**	,970**	1									
POX	-0,018	0,039	0,082	0,043	0,076	,193*	0,137	-,172*	0,221	,168*	1								
CAT	-0,110	-0,170	-0,086	-0,001	-0,034	0,003	0,020	0,030	0,106	0,088	0,118	1							
SOD-İzo	-0,244	-,245*	-0,172	-,271*	-0,148	0,125	,389**	0,197	,595**	,353**	0,064	-0,078	1						
POX-İzo	-,690**	-,672**	-,681**	-,697**	-,729**	,697**	0,145	-0,104	0,084	0,134	-0,129	0,288	0,165	1					
CAT-İzo	0,112	0,131	0,175	0,130	0,267	-0,240	0,286	0,292	,394*	0,318	,502*	,822**	0,205	-0,084	1				
H_2O_2	-,775**	-,800**	-,823**	-,819**	-,834**	,629**	0,131	-0,079	-0,005	0,097	-,257*	0,069	0,204	,616**	-0,071	1			
HZG	-,263*	-,306**	-0,170	-,256*	-,326**	0,065	-0,063	,235*	0,178	0,090	-0,150	-0,003	0,055	0,042	-0,059	0,203	1		
TBARS	-,806**	-,816**	-,776**	-,815**	-,844**	,743**	0,060	-0,019	0,044	0,114	0,062	-0,046	,410*	0,380	-0,124	,743**	,640**	1	

Not: GU: Gövde uzunluğu, KU: Kök uzunluğu, BK: Biyokütle, YA: Yaş ağırlık, KA: Kuru ağırlık, Pro: Protein, Kl-a: Klorofil a, Kl-b: Klorofil b, T-Kl: Toplam klorofil, Kar: Karotenoid, POX: Peroksidaz, CAT: Katalaz, SOD-İzo: Süperoksit dismutaz izoenzim, POX-İzo: Peroksidaz izoenzim, CAT-İzo: Katalaz izoenzim, H_2O_2 : Hidrojen peroksit, HZG: Hücre zan geçirgenliği, TBARS: Lipit peroksidasyon.

** $p<0.01$, * $p<0.05$, 6d: anlamlı değil

BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada farklı tuz stresi konsantrasyonlarına maruz bırakılan glikofit *H. vulgare* (cv. *İnce-04* ve cv. *Ocak*) ve halofit *H. marinum* türlerine, Çardak Lagünü ve Lapseki kıyı zonunda yayılış gösteren halofit bitkilerin kök zonlarındaki topraklardan izole edilen BN ve ML'nin hem PGPR olma kapasiteleri hem de fizyolojik ve biyokimyasal etkileri araştırılmıştır.

Çanakkale kıyılarından Çanakkale Boğazının Marmara Denizine açılan kuzey kesiminde yer alan Çardak sahil zonunda yetişen *E. maritimum* kök rizosferinden izole edilen ve PGPR olma özellikleri belirlenen ML, *Micrococcaceae* familyasındaki Gram pozitif, hareketsiz, pigmentli, saprotrofik bir kök bakterisidir. Aynı zamanda zorunlu bir aerobik olan ML toprakta, tozda, suda ve havada yaşayabildiği bildirilmiştir (Madigan vd., 2017).

Çanakkale Lapseki kıyı zonunda yetişen *A. macrostachyum* kök rizosferinden izole edilen ve PGPR olma özelliği belirlenen BN, ilk kez uzay aracı montaj tesisinden izole edilen bakteri *Bacillaceae* familyasında Gram pozitif, fakültatif anaerobik, endospor üreten ve sporları γ -radyasyonuna dayanıklı olduğu bildirilmiştir (Venkateswaran, 2003).

İzolaların eldesi ve bunlar içerisinde PGPR olma özelliklerine sahip olan BN ve ML uygulamaları her üç arpada farklı fizyolojik ve biyokimyasal etkilere neden olmuştur. Buna göre BN ile inoküle tohumlarda gelişen fidelerde kontrole kıyasla kök uzunluğu tüm arpa türlerinde azalırken, gövde uzunluğunun *Ocak* ve *İnce-04*'te tuz stresinin negatif etkisini nötralize ettiği belirlenmiştir. Diğer yandan aynı çeşitlerde hem yaş hem de kuru ağırlıkları BN inokülasyonu artışa neden olmuştur. Ancak biyokütlerdeki artış sadece *İnce-04*'te gerçekleşmiştir. İlginç şekilde her iki çeşitte 300 mM NaCl uygulamalarında toplam klorofil miktarı artmıştır. Buraya kadarki sonuçlar tuz stresiyle büyümede ortaya çıkan gerilemenin, BN uygulamasıyla *Ocak* ve *İnce-04*'te sınırlandığını işaret etmektedir. Oysa biyokimyasal etkilere bakıldığında BN inokülasyonu her üç arpa çeşidinde protein miktarını arttırmıştır. Ek olarak, H₂O₂ miktarının tüm tuz konsantrasyonlarında hiçbirinde değişmediği belirlenmiştir. Ancak lipit peroksidasyonun bir göstergesi olarak TBARS miktarının kontrolde tüm arpa türlerinde azalmasına rağmen 100 mM NaCl'de sadece *İnce-04* ve 300mM NaCl'de ise *H. marinum* ve *İnce-04*'te azalması ilginç bulunmuştur. Diğer

yandan HZG, 0 ve 100 mM NaCl tüm çeşitlerde azalmasına karşın yüksek tuz konsantrasyonunda sadece *İnce-04* azalmanın H₂O₂ miktarından bağımsız olarak başka faktörlerin biyokimyasal etkisine işaret ediyor olabilir. Bununla birlikte CAT aktivitesi tüm tuz konsantrasyonlarında tüm çeşitlerde artmıştır. Buna zıt şekilde, bir başka H₂O₂ çöpçüsü olan POX aktivitesinin ise sadece düşük tuz konsantrasyonunda artması H₂O₂ miktarında neden bir azalma olmadığını açıklamaktadır.

BN inokülasyonu için tüm veriler değerlendirildiğinde ilk olarak *İnce-04*'ün ve ardından *Ocak* çeşidinin tuz stresinin olumsuz etkilerinden BN inokülasyonu ile korunduğu anlaşılmıştır. *H. marinum*'un ise halofit doğası nedeniyle glikofit arpa çeşidine kıyasla BN inokülasyonunda daha az etkilendiği belirlenmiştir. *Bacillus* türlerinin PGPR özelliklerinin, arpada tuz stresine bağlı olarak ortaya çıkan büyümenin inhibisyonunu azalttığı ve sürdürülebilir tarım çerçevesinde değerli bir potansiyele sahip oldukları bilinmektedir (Çakmakçı vd., 2014; Talay, 2019; Orhan ve Demirci, 2020). Arpa bitkisinde tuz stresinin kök ve gövde uzunluğunu sınırladığı (Somayeh vd., 2012) ve *Bacillus* türlerinin tuza dayanıklı ve duyarlı arpa çeşitlerine inokülasyonu ile farklı fizyolojik ve biyokimyasal tepkilere neden olduğu da bilinmektedir (Şahin vd., 2010). Dayanıklı ve duyarlı arpa varyeteleri arasındaki tuz toleransı farkının; redoks potansiyeli, fotosentetik kapasite ve biyokütlerdeki artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Yıldız ve Terzi, 2013; Jaben vd., 2020). Sürdürülebilir gıda tedariği için toprak-bitki biyomunun faydalı özelliklerinin potansiyel kullanımında PGPR olarak *Bacillus* türlerinin; fitoremediasyon potansiyelleri, fosforu çözebilmeleri, gelişmiş Fe alınımı gibi siderofor üretmelerinin yanı sıra tuz toleransına da olumlu etki yaptıkları bilinmektedir (Mahmoud vd., 2020). *H. marinum*'un glikofit arpa çeşitlerine kıyasla redoks potansiyelinin indüklenmesiyle tuz teşvikli oksidatif hasara karşı iyi bir korumaya sahiptir (Türkan vd., 2010). Yüksek tuz konsantrasyonunda, BN *H. marinum*'un redoks potansiyelini özellikle CAT ve POX üzerinden arttırmıştır. İzoenzim profilleri de bu bilgiyle uyumlu bulunmuştur. Bununla birlikte, tuza duyarlı *İnce-04*'te BN özellikle CAT aktivitesini önemli ölçüde arttırmıştır. Buna karşın, *Ocak* çeşidinde POX sadece 100 mM NaCl, CAT ise 300 mM NaCl'ye kadar artmıştır. Bu ve diğer büyüme verilerimiz arpada PGPR olarak *Bacillus* türlerinin kullanıldığı çok sayıda araştırmayla uyumludur (Şahin vd., 2010; Çakmakçı vd., 2014; Kasım vd., 2016; Talay, 2019; Altuner vd., 2020). Bu veriler *B. nealsonii* için ise bu araştırmayla arpa için ilk defa sunulmaktadır.

ML inokülasyonu kök uzunluğunu tüm tuz stresi konsantrasyonlarında sadece *İnce-04*'te artırırken, gövde uzunluğunu hem *Ocak* hem de *İnce-04*'te artırmıştır. Benzer şekilde yaş ağırlık sadece *İnce-04*'te artmış, kuru ağırlık ise hem *Ocak* hem de *İnce-04*'te artmıştır. Ancak biyokütlerdeki artış ise sadece 300 mM NaCl' de *İnce-04*'te belirlenmiştir. Ek olarak toplam klorofil miktarında ise 300 mM NaCl' de *Ocak* ve *İnce-04*'te artarken *H. marinum*' da değişmemiştir. Buraya kadarki veriler ML inokülasyonunun özellikle *İnce-04* için olumlu etkiye sahip olduğuna işaret etmektedir. Diğer yandan protein miktarının tuz stresi altında *Ocak* ve *H. marinum*'da artmasına rağmen, *İnce-04*'te sadece 100mM NaCl'de azaldığı ama 300mM NaCl'de tüm çeşitlerde değişmediği saptanmıştır. Bununla birlikte TBARS miktarının tüm tuz konsantrasyonlarında *H. marinum*'da değişmediği ve *İnce-04*'te azaldığı belirlenmiştir. Bu bağlamda HZG verileri TBARS verileriyle uyumlu bulunmuştur.

Ocak çeşidi için bu veriler değişkendir. Diğer yandan tüm konsantrasyonlarında H₂O₂ çöpçüsü enzimlerden POX' un sadece *Ocak* çeşidinde, CAT' in ise sadece *İnce-04*' te artan aktivitelere sahip olduğu saptanmıştır. Bu durum ML inokülasyonu farklı çeşitlerde farklı antioksidan enzimler üzerinde farklı yolları etkilediğini düşündürmektedir.

ML inokülasyonu için tüm veriler değerlendirildiğinde ilk olarak *İnce-04* ardından *H. marinum* ve daha sonra *Ocak* çeşidinin tuz stresinin olumsuz etkilerinden ML inokülasyonu ile korunduğu belirlenmiştir. Gerek redoks gerekse büyüme verileri karşılaştırıldığında, ML inokülasyonunun diğer arpa çeşitlerine kıyasla özellikle tuza duyarlı *İnce-04*'te tuz stresinin olumsuz etkilerini önemli ölçüde hafiflettiği belirlenmiştir. Literatürde arpaya PGPR olarak ML inokülasyonu ile ilgili bir veri bulunmamaktadır. Ancak karabiber bitkisinde ML inokülasyonunun farklı N, P, K dozlarında kök gelişimini, bitki boyunu, biyokütleyi, yaprak sayısını ve podyum sayısını gübre kontrolüne kıyasla arttırdığı belirlenmiştir (Dinesh vd., 2014). Buna ek olarak, nar bitkisinde ML inokülasyonu ile büyümenin, verimin ve meyve kalitesinin iyileşme potansiyeli olduğu rapor edilmiştir (Acar vd., 2022). Li vd. (2020), *Micrococcus* genusu içerisinde sınıflandırılan *Kocuria* genusundan *Kocuria rhizophila*'nın tuz stresi (%10) altındaki mısır bitkisinde tuz toleransını arttırdığını belirlemişlerdir. Buna göre *K. rhizophila*'nın geliştirdiği tuz toleransında; fosfat çözünürlüğü ve IAA üretimine bağlı büyümenin teşvik edilmesi, IAA ve ABA seviyelerinin düzenlenmesi, antioksidanları kodlayan genlerin ve tuz toleransında yer alan genlerin yüksek transkript seviyelerine çıkmasının sağlanması, tüm antioksidan enzimlerin tuzlulukla

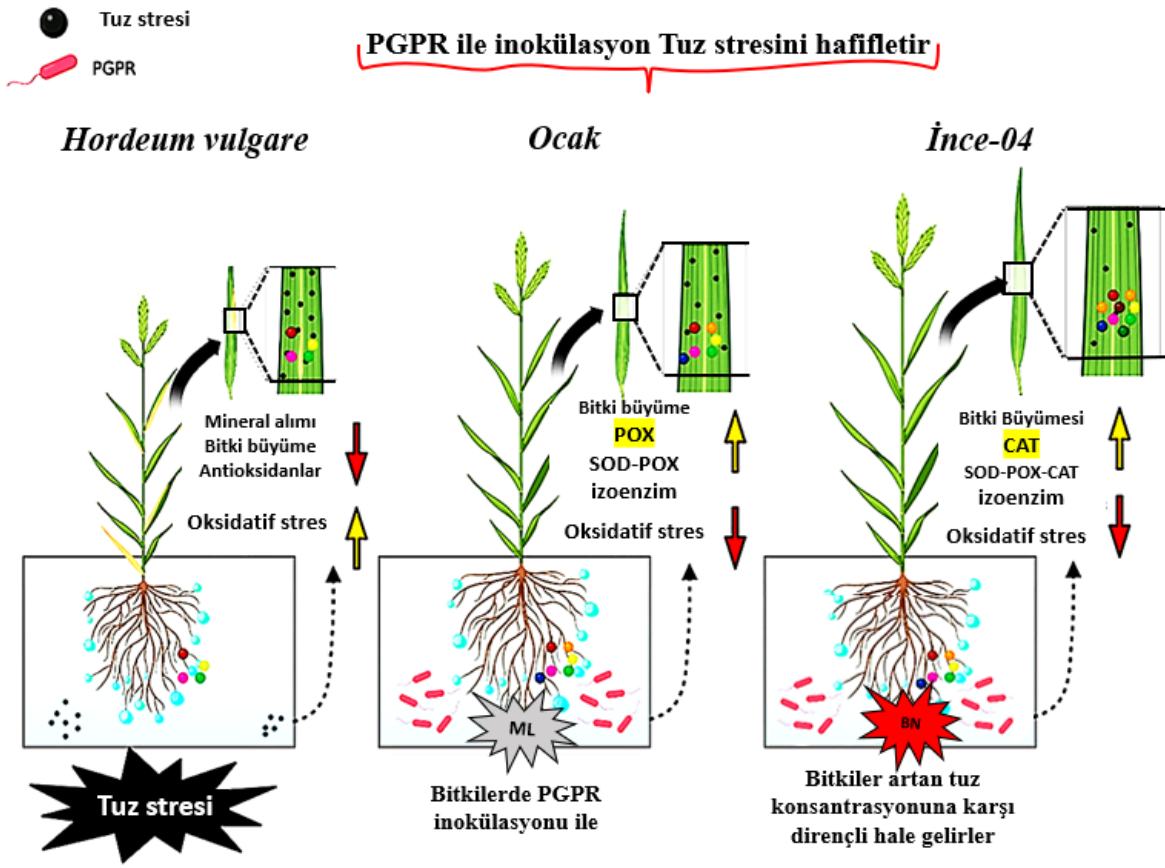
artması gösterilmiştir. ML için araştırma sonuçlarımız Li vd. (2020)'nin bulgularıyla benzerdir. Ancak bu sonuçlar arpa için ilk defa belirlenmiştir.

Genel olarak; PGPR olarak kullanılan *Bacillus* ve *Micrococcus* türlerinin yer aldığı araştırmalarda tuz tolerans ile ilişkili mekanizmalar; yüksek IAA üretimi, ACC deaminaz aktivitesinde artış yoluyla etilen üretiminin baskılanması, besin (N, P, K) alınımının artışının sağlanarak büyümenin desteklenmesi, redoks potansiyelinin ve buna bağlı gen ifadelerinin artışıyla oksidatif zararın azaltılması, iyon homeostazının sağlanması, fotosentetik kapasitenin artması ve strese duyarlı ifadelerinde artış olduğuna dair çalışmalar halen araştırılmaktadır. ACC deaminaz aktivitesinin, tuzdan etkilenen bitkilerde artan etilen seviyelerini azalttığı ve tuzluluk stresine karşı dayanıklılık kazandırdığı bildirilmiştir (Bharti ve Barnawal 2019). Bu tez çalışmasında; PGPR olarak belirlediğimiz ML ve BN'nin yüksek siderofor üretme, ACC deaminaz enzim üretme, azot fiksasyonu yaptığı, IAA üretimini teşvik ettiği, redoks potansiyelini artırarak oksidatif zararın azaltıldığı ve biyokütlenin arttırıldığı özellikle tuza duyarlı *İnce-04*'te gösterilmiştir.

Araştırma sonuçlarımız, her iki bakteri inokülasyonun tuza duyarlı olarak belirlediğimiz *İnce-04* çeşidinin 14 günlük fidelerinde fizyolojik ve biyokimyasal olarak olumlu etkilere neden olarak tuz stresinin olumsuz etkilerini sınırladığını göstermiştir. Tuza dayanıklı olarak belirlediğimiz *Ocak* çeşidi ile halofit *H. marinum* ise uygulanan PGPR bakteri inokülasyonunda kullanılan bakteri türüne bağlı olarak farklı yanıtlar verdiği işaret etmiştir.

Sonuç olarak, denizel habitattan izole edilen ve PGPR olma potansiyeline sahip ML ve BN'nin glikofit ve tuza duyarlı *İnce-04*'ün tuza duyarlılığını azalttığı ve buna benzer şekilde verimi yüksek tuza duyarlı arpa genotipleri için bu bakterilerin PGPR uygulama potansiyellerinin koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. PGPR bakterileri, rizosferlerinde büyümeyi teşvik eden farklı maddeler salgılayarak konukçu bitkilerin büyümesini ve gelişmesini hızlandırır. Ayrıca, tuz stresine karşı bitkilerde üretilen ROT'lerin birikimi PGPR'ler yardımıyla azaltılıp antioksidan savunma sistemini indüklediği gösterilmiştir. Böylece, büyüme ve gelişimine katkı sağlayan PGPR uygulaması ile arpa türlerinde antioksidan mekanizmalar ve çeşitli sinyal yolları aracılığıyla oksidatif strese karşı tolerans sağladığı bu araştırmada kanıtlanmıştır. Diğer yandan, Çanakkale kıyılarından izole edilen ML ve BN'nin PGPR oldukları da bu çalışmayla belirlenmiştir. Dahası, tuz stresi altındaki arpa türlerine bu PGPR'lerin inokülasyonu ile hücre redoks

dengesi üzerindeki ortaya çıkan biyokimyasal etki ilk defa araştırılmış olmaktadır. Araştırmada kullanılan glikofit *H. vulgare* çeşitlerinin tuz stresi altında ML ve BN inokülasyonu ile belirlenen temel sonucu Şekil 47’de şematik olarak gösterilmiştir. Diğer yandan çevre dostu bir çözüm olan PGPR’lerin kullanımının artması sürdürülebilir tarıma katkısının yanı sıra kimyasal içerikli gübrelerin ve zirai ilaçların kullanımının önemli ölçüde azaltılmasına katkı sağlama potansiyeline sahiptir.



Şekil 47. Farklı tuz stresi konsantrasyonlarına maruz bırakılan glikofit *H. vulgare* (cv. *İnce-04* ve cv. *Ocak*) çeşitlerine, Çardak Lagünü ve Lapseki kıyı zonunda yayılış gösteren halofit bitkilerin kök zonlarındaki topraklardan izole edilen BN ve ML'nin inokülasyonu ile fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin şematik gösterimi.

KAYNAKÇA

- Acar, O., Pırlak, L. ve Dönmez, M.F. (2022). “Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth, Yield and Fruit Quality of Pomegranate (*Punica granatum* L.)”. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 36(2), 247-252.
- Agami, R. A., Medani, R. A., Abd El-Mola, I. A. ve Taha, R. S. (2016). “Exogenous application with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) or proline induces stress tolerance in basil plants (*Ocimum basilicum* L.) exposed to water stress”. *International Journal of Agriculture and Environmental Research*, 2(5), 78.
- Ahmad, P., Ahanger, M. A., Alyemeni, M. N., Wijaya, L. ve Alam, P. (2018). “Exogenous application of nitric oxide modulates osmolyte metabolism, antioxidants, enzymes of ascorbate-glutathione cycle and promotes growth under cadmium stress in Tomato”. *Protoplasma*, 255, 79-93.
- Akhter, M. S., Noreen, S., Mahmood, S., Ashraf, M., Alsahli, A. A. ve Ahmad, P. (2021). “Influence of salinity stress on PSII in barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes, probed by chlorophyll-a fluorescence”. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101239.
- Akhtyamova, Z., Arkhipova, T., Martynenko, E., Nuzhnaya, T., Kuzmina, L., Kudoyarova, G. ve Veselov, D. (2021). “Growth-promoting effect of rhizobacterium (*Bacillus subtilis* IB22) in salt-stressed barley depends on abscisic acid accumulation in the roots”. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), 10680.
- Al-Ajlouni, Z. I., AL-Quraan, N. A., Al-Saqqar, H. Y., ve Al-Ghzawi, A. L. (2023). “GABA metabolism and ROS accumulation in barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings under the effect of salt and osmotic stress”. *Research Square*, <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2480355/v1>.
- Alharbi, K., Rashwan, E., Mohamed, H. H., Awadalla, A., Omara, A. E. D., Hafez, E. M. ve Alshaal, T. (2022). “Application of silica nanoparticles in combination with two bacterial strains improves the growth, antioxidant capacity and production of barley irrigated with saline water in salt-affected soil”. *Plants*, 11(15), 2026.

- Alkharabsheh, H. M., Seleiman, M. F., Hewedy, O. A., Battaglia, M. L., Jalal, R. S., Alhammad, B. A. ve Al-Doss, A. (2021). "Field crop responses and management strategies to mitigate soil salinity in modern agriculture: A review". *Agronomy*, 11(11), 2299.
- Allakhverdiev, S. I., Nishiyama, Y., Miyairi, S., Yamamoto, H., Inagaki, N., Kanesaki, Y. ve Murata, N. (2002). "Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of psbA genes in *Synechocystis*". *Plant Physiology*, 130(3), 1443-1453.
- Altuner, F., Özdemir, B., Salih, S. J., Erol, O. R. A. L., Atmaca, Ş. D. ve Ülker, M. (2022). "Kimyasal Gübre ve Rizobakteri (PGPR) Kombinasyonlarının Arpa Çeşitlerinde Verim ve Verim Özellikleri Üzerine Etkileri". *MAS Journal of Applied Sciences*, 7(2), 420-432.
- Apel K. ve Hirt H., (2004). "Reactive Oxygen Species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction". *Annual Review of Plant Biology*. 55: 373–99.
- Arif, Y., Singh, P., Siddiqui, H., Bajguz, A. ve Hayat, S. (2020). "Salinity induced physiological and biochemical changes in plants: An omic approach towards salt stress tolerance". *Plant Physiology and Biochemistry*, 156, 64-77.
- Aron, D. I. (1949). "Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*". *Plant physiology*, 24(1), 1.
- Asada K., (1999). "The Water- Water Cycle in Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons". *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 601-639.
- Ashraf, M. (2004). "Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants". *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 199 (5), 361-376.
- Ashraf, M. (2009). "Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers". *Biotechnology advances*, 27(1), 84-93.
- Assaha, D. V., Ueda, A., Saneoka, H., Al-Yahyai, R. ve Yaish, M. W. (2017). "The role of Na⁺ and K⁺ transporters in salt stress adaptation in glycophytes". *Frontiers in physiology*, 8, 509.

- Azadikhah, M., Jamali, F., Nooryazdan, H. R. ve Bayat, F. (2019). "Growth promotion and yield enhancement of barley cultivars using ACC deaminase producing *Pseudomonas fluorescens* strains under salt stress". *Spanish Journal of Agricultural Research*, 17(1), e0801-e0801.
- Baltruschat, H., Fodor, J., Harrach, B. D., Niemczyk, E., Barna, B., Gullner, G., ve Skoczowski, A. (2008). "Salt tolerance of barley induced by the root endophyte *Piriformospora indica* is associated with a strong increase in antioxidants", *New Phytologist*, 180 (2), 501-510.
- Bauer, A. N., Kirby, W. M. M., Sherry, J. C., Turck, M. (1966). "Antibiotic susceptibility testing by a standardized single discs method", *American Journal of Clinical Pathology*, 45 (4), 493-496.
- Benlioğlu, B. ve Özkan, U. (2015). "Bazı Arpa Çeşitlerinin (*Hordeum vulgare* L.) Çimlenme Dönemlerinde Farklı Dozlardaki Tuz Stres Tepkilerinin Belirlenmesi". *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24 (2), 109-114.
- Bergmeyer, N. (1970). "Methoden der enzymatischen analyse", AkademieVerlag, Berlin, 1, 636-647.
- Bharti, N. ve Barnawal, D. (2019). "Amelioration of salinity stress by PGPR: ACC deaminase and ROS scavenging enzymes activity". In PGPR amelioration in sustainable agriculture (pp. 85-106). Woodhead Publishing.
- Borsani, O., Valpuesta, V. ve Botella, M.A. (2003). "Developing salt tolerant plants in a new century: a molecular biology approach". *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 73: 101-115.
- Bouhraoua, S., Ferioun, M., Nassira, S., Boussakouran, A., Akhazzane, M., Belahcen, D. ve Louahlia, S. (2023). "Biomass partitioning and physiological responses of four Moroccan barley varieties subjected to salt stress in a hydroponic system". *Journal of Plant Biotechnology*, 50(1), 115-126.
- Bozkurt, D. 2016. Bor İçeren Ortamlarda Prokaryotik Çeşitliliğın Belirlenmesi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi), Eskişehir.

- Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of the protein-dye binding". *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Chakraborti, S., Bera, K., Sadhukhan, S. ve Dutta, P. (2022). "Bio-priming of seeds: Plant stress management and its underlying cellular, biochemical and molecular mechanisms". *Plant Stress*, 3, 100052.
- Chaudhary, D. ve Sindhu, S. S. (2017). "Amelioration of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) by coinoculation of ACC deaminase-containing rhizospheric bacteria with *Mesorhizobium* strains". *Legume Research-An International Journal*, 40(1), 80-86.
- Chaudhry, S. ve Sidhu, G. P. S. (2022). "Climate change regulated abiotic stress mechanisms in plants: A comprehensive review". *Plant Cell Reports*, 41(1), 1-31.
- Cheeseman, J. M. (2006). "Hydrogen peroxide concentrations in leaves under natural conditions". *Journal of Experimental Botany*, 57(10), 2435-2444.
- Chen, K., Li, G. J., Bressan, R. A., Song, C. P., Zhu, J. K. ve Zhao, Y. (2020). "Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants". *Journal of Integrative Plant Biology*, 62(1), 25-54.
- CLSI, (2020). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 30th Edition: M100.
- Corwin, D. L. (2021). "Climate change impacts on soil salinity in agricultural areas". *European Journal of Soil Science*, 72 (2), 842-862.
- Cushman, J. C., Meyer, G., Michalowski, C. B., Schmitt, J. M. ve Bohnert, H. J. (1989). "Salt stress leads to differential expression of two isogenes of phosphoenolpyruvate carboxylase during crassulacean acid metabolism induction in the common ice plant". *The Plant Cell*, 1(7), 715-725.
- Çakmakçı, R., Dönmez, M. F. ve Erdoğan, Ü. (2007a). "The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on barley, seedling growth, nutrient uptake, some soil properties and bacterial counts". *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31, 189-199.

- Çakmakçı, R., Turan, M., Gulluce, M. ve Sahin, F. (2014). “Rhizobacteria for reduced fertilizer inputs in wheat (*Triticum aestivum* spp. vulgare) and barley (*Hordeum vulgare*) on Aridisols in Turkey”. *International Journal of Plant Production* ,8 (2) 163-181.
- Çulha, Ş. ve Çakırlar, H. (2011). “Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları”. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 11(2), 11-34.
- Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E. V. M. M., Van Montagu, M., Inzé, D. ve Van Breusegem, F. (2000). “Dual action of the active oxygen species during plant stress Responses”. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 57, 779-795.
- Dinesh, R., Anandaraj, M., Kumar, A., Subila, K. P., Bini, Y. K., ve Aravind, R. (2014). “Native multi-trait rhizobacteria promote growth and suppress foot rot in black pepper”. *Journal of Spices and Aromatic Crops*, 23, 156-163.
- El Ghazali, G. E. (2020). “*Suaeda vermiculata* Forssk. ex JF Gmel.: structural characteristics and adaptations to salinity and drought: a review”. *International Journal of Sciences*, 9(02), 28-33.
- El Sabagh, A., Hossain, A., Barutcular, C., Gormus, O., Ahmad, Z., Hussain, S. ve Saneoka, H. (2019). “Effects of Drought Stress on The Quality of Major Oilseed Crops: Implications and Possible Mitigation Strategies–A Review”. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2).
- Elkiran, O., Avsar, C., Veyisoglu, A. ve Bagci, E. (2023). “The chemical composition and biological activities of essential oil from the aerial parts of *Eryngium maritimum* L.(Apiaceae)”. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 26(3), 566-575.
- ElNaker, N.A., Yousef, A.F. ve Yousef, L.F. (2020). “A review of *Arthrocnemum* (Arthrocaulon) *macrostachyum* chemical content and bioactivity”. *Phytochemistry Reviews*, 19, 1427-1448.
- FAO, (2022). Food and Agriculture Organization. Erişim Tarihi: 20 Temmuz 2023, <https://www.fao.org/faostat/en/#data>.
- Feroun, M., Srhiouar, N., Tirry, N., Belahcen, D., Siang, T. C., Louahlia, S. ve El Ghachtouli, N. (2023). “Optimized drought tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.)

- using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR)". *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102691.
- Foyer, C. H. ve Noctor, G. (2000). "Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling". *The New Phytologist*, 146(3), 359-388.
- Foyer, C. H. ve Noctor, G. (2005). "Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses". *The plant cell*, 17(7), 1866-1875.
- Gang, S., Sharma, S., Saraf, M., Buck, M. ve Schumacher, J. (2019). "Analysis of Indole-3-acetic Acid (IAA) Production in *Klebsiella* by LC-MS/MS and the Salkowski Method". *Bio-protocol* 9(9): e3230.
- Garces, H., Durzan, D., Pedroso, M.C. (2001). "Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana*". *Annals of Botany*, 87, 567-574.
- Georgieva, M. ve Vassileva, V. (2023). "Stress Management in Plants: Examining Provisional and Unique Dose-Dependent Responses". *International Journal of Molecular Sciences*, 24 (6), 5105.
- Glick, B. R. (2012). "Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications". *Scientifica*, 2012, (15), 963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>.
- Gorovits, R. ve Czosnek, H. (2008). "Expression of stress gene networks in tomato lines susceptible and resistant to Tomato yellow leaf curl virus in response to abiotic stresses". *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(4), 482-492.
- Groppa, M. D., Benavides, M. P., ve Zawoznik, M. S. (2012). Root hydraulic conductance, aquaporins and plant growth promoting microorganisms: A revision". *Applied Soil Ecology*, 61, 247-254.
- Gunn, L. H., Martin Avila, E., Birch, R. ve Whitney, S. M. (2020). "The dependency of red Rubisco on its cognate activase for enhancing plant photosynthesis and growth". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(41), 25890-25896.

- Gupta, B. ve Huang, B. (2014). "Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization". *International Journal of Genomics*, 2014 (8).
- Gupta, R. S., Patel, S., Saini, N. ve Chen, S. (2020). "Robust demarcation of 17 distinct *Bacillus* species clades, proposed as novel *Bacillaceae* genera, by phylogenomics and comparative genomic analyses: description of *Robertmurraya kyonggiensis* sp. nov. and proposal for an emended genus *Bacillus* limiting it only to the members of the *Subtilis* and *Cereus* clades of Species". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(11), 5753-5798.
- Gupta, S. V. K., Smith, P., Natera, S. H. ve Roessner, U. (2022). "Biochemical Changes in Two Barley Genotypes Inoculated with a Beneficial Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai T-22 Grown in Saline Soil". *Frontiers in Plant Science*, 13, 908853.
- Gupta, S., ve Pandey, S. (2019). "ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French bean (*Phaseolus vulgaris*) plants". *Frontiers in Microbiology*, 10, 1506.
- Güler, M. (2022). Tarımda Biyolojik Gübre Olarak Kullanılacak PGPR (Bitki Gelişimini Teşvik Edici Rizobakteriler) Özellikli Bakterilerin Kırşehir İlindeki Topraklardan İzolasyonu ve Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı, Kırşehir.
- Habibi, G. ve Aleyasin, Y. (2020). "Green synthesis of Se nanoparticles and its effect on salt tolerance of barley plants". *International Journal of Nano Dimension*, 11, 145–157.
- Hao, Q., Wang, W., Han, X., Wu, J., Lyu, B., Chen, F. ve Fu, D. (2018). "Isochorismate-based salicylic acid biosynthesis confers basal resistance to *Fusarium graminearum* in Barley". *Molecular Plant Pathology*, 19(8), 1995-2010.
- Hassan, A., Amjad, S. F., Saleem, M. H., Yasmin, H., Imran, M., Riaz, M. ve Alyemeni, M. N. (2021). "Foliar application of ascorbic acid enhances salinity stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.) through modulation of morpho-physio-biochemical attributes, ions uptake, osmo-protectants and stress response genes expression". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4276-4290.

- Hassan, A., Saleem, M. H., Parveen, A., Mobeen, A. S., Shakoor, A., Ali, Q. ve Ali, S. (2020). "Oxidative stress alleviation as indicated by enzymatic and nonenzymatic antioxidants and osmoregulators in barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt (NaCl) stress by ascorbic acid (ASA)". *Pakistan Journal of Botany*, 54(1).
- Hoagland, D.R. ve Arnon, D.I. (1950). "The water-culture method for growing plants without soil". *California Agricultural Experiment Station*, Circular-347.
- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). "Bergey's manual of determinative bacteriology". (Ninth Edition), William ve Wilkins, Baltimor.
- Hundertmark, M. ve Hinch, D. K. (2008). "LEA (late embryogenesis abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*". *BMC genomics*, 9, 1-22.
- Isayenkov, S., Hilo, A., Rizzo, P., Tandron Moya, Y. A., Rolletschek, H., Borisjuk, L. ve Radchuk, V. (2020). "Adaptation strategies of halophytic barley *Hordeum marinum* ssp. *marinum* to high salinity and osmotic stress". *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9019.
- Jabeen, Z., Hussain, N., Irshad, F., Zeng, J., Tahir, A. ve Zhang, G. (2020). "Physiological and antioxidant responses of cultivated and wild barley under salt stress". *Plant, Soil and Environment*, 66(7), 334-344.
- Jamil, A., Riaz, S., Ashraf, M. ve Foolad, M. R. (2011). "Gene expression profiling of plants under salt stress". *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30(5), 435-458.
- Janků, M., Luhová, L. ve Petřivalský, M. (2019). "On the origin and fate of reactive oxygen species in plant cell compartments". *Antioxidants*, 8(4), 105.
- Kanner, J., Kinsella, J. E. (1983). "Lipid deterioration initiated by phagocytic cells in muscle foods: β -carotene destruction by a myeloperoxidase-hydrogenperoxidehalide system". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31, 370-376.
- Karademir, M. S. (2022). Arpada Bazı Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakteri Uygulamalarının Verim ve Verim Komponentleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi. Siirt Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, Siirt.

- Kasim, W. A., Gaafar, R. M., Abou-Ali, R. M., Omar, M. N. ve Hewait, H. M. (2016). "Effect of biofilm forming plant growth promoting rhizobacteria on salinity tolerance in Barley". *Annals of Agricultural Sciences*, 61(2), 217-227.
- Klindworth, A., Pruesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M. ve Glöckner, F. O. (2013). "Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity Studies". *Nucleic Acids Research*, 41(1), e1-e1.
- Klopper, J.W., Schroth, M.N. (1978). "Plant growth promoting rhizobacteria on radishes". In:Proceeding IV International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Vol.2, Station.
- Köten, M., Ünsal, A. S. ve Atlı, A. (2013). "Arpanın İnsan Gıdası Olarak Değerlendirilmesi". *Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(2): 51-55.
- Kumar, D., Yusuf, M.A., Singh, P., Sardar M. ve Sarin, N.B. (2014). "Histochemical detection of superoxide and H₂O₂ accumulation in *Brassica juncea* seedlings". *Bio-protocol*, 4(8): e1108-e1108.
- Kumar, V., Raghuvanshi, N., Pandey, A. K., Kumar, A., Thoday-Kennedy, E. ve Kant, S. (2023). "Role of halotolerant plant growth-promoting rhizobacteria in mitigating salinity stress: Recent advances and possibilities". *Agriculture*, 13 (1), 168.
- Kumawat, K. C., Nagpal, S. ve Sharma, P. (2022). "Potential of plant growth-promoting rhizobacteria-plant interactions in mitigating salt stress for sustainable agriculture: A review". *Pedosphere*, 32(2), 223-245.
- Laemmli, U. K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T". *Nature* 227, 680-685.
- Lahsini, A. I., Sallami, A., Obtel, M., Douira, A., El Modafar, C., Benkerroum, N. ve Filali-Maltouf, A. (2022). "Isolation and molecular identification of an indigenous abiotic stress-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria from the rhizosphere of the olive tree in southern Morocco". *Rhizosphere*, 23, 100554.
- Levitt J., (1980). Responses of Plants to Environmental Stresses, Vol 1, Academic Press, New York.

- Li, X., Sun, P., Zhang, Y., Jin, C. ve Guan, C. (2020). “A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression”. *Environmental and Experimental Botany*, 174, 104023.
- Li, Z.G., Li, X.E., Chen, H.Y. (2022). “Sulfur dioxide: An emerging signaling molecule in plants. *Frontiers in Plant Science*, 13, 891626.
- Liu, F., Xing, S., Ma, H., Du, Z. ve Ma, B. (2013). “Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings”. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97, 9155-9164.
- Madhava, R. K. M., Sresty, T. V. S. (2000). “Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses”. *Plant Science*, 157(1), 113-128.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Bender, K. S., Buckley, D. H. ve Stahl, D. A. (2017). Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi. Ondördüncü Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 40-522.
- Mahmoud, O. M. B., Hidri, R., Talbi-Zribi, O., Taamalli, W., Abdelly, C. ve Djébalı, N. (2020). “Auxin and proline producing rhizobacteria mitigate salt-induced growth inhibition of barley plants by enhancing water and nutrient status”. *South African Journal of Botany*, 128, 209-217.
- Maurel, C. ve Chrispeels, M. J. (2001). “Aquaporins. A molecular entry into plant water relations”. *Plant physiology*, 125(1), 135-138.
- Meena, K. K., Sorty, A. M., Bitla, U. M., Choudhary, K., Gupta, P., Pareek, A. ve Minhas, P. S. (2017). “Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies”. *Frontiers in plant science*, 8, 172.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. ve Van Breusegem, F. (2004). “Reactive oxygen gene network of plants”. *Trends in plant science*, 9(10), 490-498.

- Montalvo-Rodríguez, R., Ruíz-Acevedo, A. ve López-Garriga, J. (1997). “New isolates of extremely halophilic archaeobacteria (Halobacteria) from Puerto Rico and the Caribbean”. *Caribbean Journal of Science*, 33(1), 98-104.
- Morales-Cedeño, L. R., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., Loeza-Lara, P. D., Parra-Cota, F. I., de Los Santos-Villalobos, S. ve Santoyo, G. (2021). “Plant growth-promoting bacterial endophytes as biocontrol agents of pre-and post-harvest diseases: Fundamentals, methods of application and future perspectives”. *Microbiological Research*, 242, 126612.
- Munns, R. (2002). “Comparative physiology of salt and water stress”. *Plant, cell and environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R. ve Tester, M. (2008). “Mechanisms of Salinity Tolerance”. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
- Nefissi Ouertani, R., Arasappan, D., Ruhlman, T. A., Ben Chikha, M., Abid, G., Mejri, S. ve Jansen, R. K. (2022). “Effects of salt stress on transcriptional and physiological responses in barley leaves with contrasting salt tolerance”. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(9), 5006.
- Neshat, M., Abbasi, A., Hosseinzadeh, A., Sarikhani, M. R., Dadashi Chavan, D. ve Rasoulnia, A. (2022). “Plant growth promoting bacteria (PGPR) induce antioxidant tolerance against salinity stress through biochemical and physiological mechanisms”. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 28(2), 347-361.
- Olur, Ü., Uçar, C. ve Akköprü, A. (2021). “Tuz stresi altında gelişen bitkilerden izole edilen endofit bakterilerin bazı bitki gelişimini teşvik etme mekanizmalarının ve hıyar fide gelişimine etkilerinin belirlenmesi”. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 26 (3), 635-648.
- Orendi, G., Zimmermann, P., Baar, C., Zentgraf, U. (2001). “Loss of stress induced expression of catalase 3 during leaf senescence in *Arabidopsis thaliana* is restricted to oxidative stress”. *Plant Science*, 161, 301-314.
- Orhan, F. ve Demirci, A. (2020). “Tuz stresini azaltan halotolerant/halofil bitki büyümesini teşvik etme potansiyeli”. *Geo Mikrobiyoloji Dergisi*, 37 (7), 663-669.

- Osman, A. C. A. R., Pirlak, L. ve Dönmez, M. F. (2022). “Effects of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Growth, Yield and Fruit Quality of Pomegranate (*Punica granatum* L.)”. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 36(2), 247-252.
- Pandey, D.M., Choi, I. ve Yeo, U.D. (2009). “Photosystem II Activity and Thylakoid Membrane Polypeptides of in vitro Cultured Chrysanthemum as Affected by NaCl”. *Biologia Plantarum*, 53 (2), 329-333.
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V. ve Senthil-Kumar, M. (2017). “Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits”. *Frontiers in Plant Science*, 8, 537.
- Pandey, N., Xalxo, R., Chandra, J. ve Keshavkant, S. (2023). “Bacterial consortia mediated induction of systemic tolerance to arsenic toxicity via expression of stress responsive antioxidant genes in *Oryza sativa* L.”. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 102565.
- Panhwar, Q.A., Ali, A., Naher, U.A., Depar, N., Memon, M.Y. (2019). “Ameliorating Plant Salt Stress Through Bacterial Inoculation: Prospects and Challenges”. In: Akhtar, M. (eds) *Salt Stress, Microbes, and Plant Interactions: Mechanisms and Molecular Approaches*. Springer, Singapore.
- Parida, A. K. ve Das, A. B. (2005). “Salt tolerance and salinity effects on plants: a review”. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.
- Parmar, P., Sindhu, S.S. (2013). “Potassium solubilisation by Rhizosphere Bacteria: influence of nutritional and environmental conditions”. *Journal of Microbiology Research*, 3, 25–31.
- Perez, E., Sulbaran, M., Ball, M. M., Yarzabal, L. A. (2007). “Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region”, *Soil Biology and Biochemistry*, 39, 2905–2914.
- Phour, M. ve Sindhu, S. S. (2022). “Mitigating abiotic stress: microbiome engineering for improving agricultural production and environmental sustainability”. *Planta*, 256(5), 85.

- Ranjbar, F. ve Jalali, M. (2016). "The combination of geostatistics and geochemical simulation for the site-specific management of soil salinity and sodicity". *Computers and Electronics in Agriculture*, 121, 301-312.
- Saboor, A., Ali, M. A., Hussain, S., El Enshasy, H. A., Hussain, S., Ahmed, N. ve Datta, R. (2021). "Zinc nutrition and arbuscular mycorrhizal symbiosis effects on maize (*Zea mays* L.) growth and productivity". *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(11), 6339-6351.
- Sagar, A., Rai, S., Ilyas, N., Sayyed, R. Z., Al-Turki, A. I., El Enshasy, H. A. ve Simarmata, T. (2022). "Halotolerant rhizobacteria for salinity-stress mitigation: Diversity, mechanisms and molecular Approaches". *Sustainability*, 14(1), 490.
- Sahin, E., Karagöz, K., Çakmakçı, R., ve Tosun, M. (2010). "Azot Fiksasyonu ve Fosfat Çözücü Bitki Gelişimini Teşvik Edici Bakteri Aşılamalarının Arpa Gelişimine Etkisi", *Türkiye IV. Organik Tarım Sempozyumu*, 28 Haziran-1 Temmuz 2010, Erzurum Atatürk Üniversitesi, Türkiye. 1-15.
- Saijo, Y. ve Loo, E. P. (2020). "Plant immunity in signal integration between biotic and abiotic stress responses". *New Phytologist*, 225:87-104.
- Sairam, R.K. ve Tyagi, A. (2004). "Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in Plants". *Current Science*, 86 (10): 407-421.
- Sandalio, L. M., Palma, J. M. ve Del Rio, L. A. (1987). "Localization of manganese superoxide dismutase in peroxisomes isolated from *Pisum sativum* L". *Plant Science*, 51(1), 1-8.
- Sayahi, N., Djemal, R., Ben Merdes, K., Saidii, M. N., Yengui, M., Gdoura, R. ve Hanin, M. (2022). "Characterization of *Siccibacter* sp. Strain C₂ a Novel Rhizobacterium that Enhances Tolerance of Barley to Salt Stress". *Current Microbiology*, 79(8), 239.
- Schwyn, B., Neilands, J. B. (1987). "Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores". *Analytical Biochemistry*, 160, 47-56.
- Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A. H. ve Ozfidan, C. (2010). "The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds.(sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley)". *Environmental and Experimental Botany*, 69(1), 76-85.

- Seevers, F. M., Daly, J. M., Catedral, F. F. (1971). "The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust". *Plant Physiology*, 48, 353–360.
- Shafi, A., Zahoor, I. ve Mushtaq, U. (2019). "Proline accumulation and oxidative stress: Diverse roles and mechanism of tolerance and adaptation under salinity stress". M. S. Akhtar (ed.). in: *Salt stress, microbes, and plant interactions: Mechanisms and molecular approaches*. (pp. 269–300). Singapore: Springer.
- Shahzad, S. M., Arif, M. S., Riaz, M., Iqbal, Z., Ashraf, M. (2013). "PGPR with varied ACC-deaminase activity induced different growth and yield response in maize (*Zea mays* L.) under fertilized conditions". *European Journal of Soil Biology*, 57, 27-34.
- Sharma, J. K., Sihmar, M., Santal, A. R. ve Singh, N. P. (2021). "Physiological and biochemical responses of seedlings of six contrasting barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars grown under salt-stressed conditions". *Journal of Applied and Natural Science*, 13(3), 1020-1031.
- Shinozaki, K. ve Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). "Gene networks involved in drought stress response and tolerance". *Journal of Experimental Botany*, 58(2), 221-227.
- Shukla, S. ve Goyal, A. (2011). "16S rRNA-based identification of a glucan-hyperproducing *Weissella confusa*". *Enzyme Research*, 2011.
- Shultana, R., Zuan, A. T. K., Naher, U. A., Islam, A. M., Rana, M. M., Rashid, M. H. ve Hasan, A. K. (2022). "The PGPR mechanisms of salt stress adaptation and plant growth promotion". *Agronomy*, 12(10), 2266.
- Singh, I. (2018). "Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and their various mechanisms for plant growth enhancement in stressful conditions: a review". *European Journal of Biological Research*, 8(4), 191-213.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P. ve Prasad, S. M. (2015). "Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: a review". *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 14, 407-426.
- Somayeh, M., Roghie, R. J. ve Shadi, K. (2012). "Effect of salinity stress on chlorophyll content, proline, water soluble carbohydrate, germination, growth and dry weight of three seedling barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars". *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 8(4), 157-168.

- Şahin, B. U. ve Dönmez, M. F. (2020). “Farklı Bakteri Uygulamalarının Domates (*Solanum lycopersicum* L.) Bitki Gelişimi Üzerine Etkileri”. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(3), 1507-1517.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P. ve McDonald, G. K. (2011). “Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress”. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 2189-2203.
- Teker Yıldız, M. ve Acar, O. (2023). Tarım Bilimleri Alanında Multidisipliner Güncel Çalışmalar II. Ed. Doç. Dr. Kübra YAZICI, Doç. Dr. Hülya DOĞAN, IKSAD Publishing House, Ankara, ss.248-273.
- Teker Yıldız, M., Acar, O., Öztürk, F. ve Hacıoğlu Doğru, N. (2023). “Tuz Stresi Altındaki Ekmeklik Buğdayda *Bacillus thuringiensis* LU3 ile Biyoprümiting’in Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Etkileri”. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(5).
- Tester, M. ve Davenport, R. (2003). “Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher Plants”. *Annals of Botany*, 503-527.
- Tindall, B.J. (1992), The Family Halobacteriaceae .In:The Prokaryotes. A Handbook of Bacteria:Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications, Vol. 1 (Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K.H., Eds.), pp. 768-808. Springer-Verlag, New York.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu Rapor. Erişim Tarihi: 15 Ağustos 2023, <https://www.tuik.gov.tr>.
- Türkan, I. ve Demiral, T. (2009). “Recent developments in understanding salinity tolerance”. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 2-9.
- Uçarlı, C. (2016). Tuz stresi etkisindeki arpa bitkilerinin gen anlatım profilleri. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Ullah, A., Bano, A. ve Khan, N. (2021). “Climate change and salinity effects on crops and chemical communication between plants and plant growth-promoting microorganisms under stress”. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 618092.

- Ullah, N., Ditta, A., Imtiaz, M., Li, X., Jan, A. U., Mehmood, S. ve Rizwan, M. (2021). "Appraisal for organic amendments and plant growth-promoting rhizobacteria to enhance crop productivity under drought stress: A review". *Journal of Agronomy and Crop Science*, 207(5), 783-802.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S. ve Nasrullohaq Boyce, A. (2016). "Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-a review". *Molecules*, 21(5), 573.
- Venkateswaran, K. (2003). "*Bacillus nealsonii* sp. nov., isolated from a spacecraft-assembly facility, whose spores are gamma-radiation resistant". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 53(1): 165-172.
- Visioni, A. (2020). "Advances in understanding of barley plant physiology: plant development and architecture". *Achieving Sustainable Cultivation of Barley*, 3-22.
- Wise, M. J. ve Tunnacliffe, A. (2004). "POPP the question: what do LEA proteins do?". *Trends in Plant Science*, 9(1), 13-17.
- Yildiz, M. ve Terzi, H. (2013). "Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars". *Journal of Agricultural Sciences*, 19(2), 79-88.
- Zaib, S., Ahmad, I. ve Shakeel, S. N. (2020). "Modulation of barley (*Hordeum vulgare*) defense and hormonal pathways by *Pseudomonas* species accounted for salinity tolerance". *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 57(6).
- Zaidi, A., Ahmad, E., Khan, M. S., Saif, S. ve Rizvi, A. (2015). "Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective". *Scientia Horticulturae*, 193, 231-239.
- Zawoznik, M. S., Ameneiros, M., Benavides, M. P., Vázquez, S. ve Groppa, M. D. (2011). "Response to saline stress and aquaporin expression in *Azospirillum*-inoculated barley seedlings". *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90, 1389-1397.
- Zayed, M. M., Elkafafi, S. H., Zedan, A. M. G. ve Dawoud, S. F. M. (2017). "Effect of Nano Chitosan on Growth, Physiological and Biochemical Parameters of *Phaseolus vulgaris* under Salt Stress". *Journal of Plant Production*, 8, 577-585.

- Zhang, N., Zhao, B., Zhang, H. J., Weeda, S., Yang, C., Yang, Z. C. ve Guo, Y. D. (2013). “Melatonin promotes water-stress tolerance, lateral root formation, and seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.)”. *Journal of Pineal Research*, 54 (1), 15-23.
- Zhang, Q. ve Dai, W. (2019). Plant response to salinity stress. W. Dai (ed.). in: *Stress Physiology of Woody Plants*. (pp. 155-173). CRC Press: Boca Raton, USA.
- Zhao, S., Zhang, Q., Liu, M., Zhou, H., Ma, C. ve Wang, P. (2021). “Regulation of plant responses to salt stress”. *International Journal of Molecular Sciences*, 22 (9), 4609.
- Zohary, D., Hopf, M. ve Weiss, E. (2012). *Domestication of Plants in the Old World: The origin and spread of domesticated plants in Southwest Asia, Europe, and the Mediterranean Basin*. Oxford University Press.