



**HALOFİTİK BİTKİLERİN RİZOSFERİNDEN
İZOLE EDİLEN HALOTOLERANT BAKTERİLER
KULLANILARAK MISIRDA (*Zea mays* L.) TUZ
STRESİ TOLERANSININ ARTIRILMASI**

İhsan AYDIN

Doktora Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Bilim Dalı

Prof. Dr. Ökkeş ATICI

2016

Her Hakkı Saklıdır

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**HALOFİTİK BİTKİLERİN RİZOSFERİNDEN İZOLE EDİLEN
HALOTOLERANT BAKTERİLER KULLANILARAK MISIRDA
(*Zea mays* L.) TUZ STRESİ TOLERANSININ ARTIRILMASI**

İhsan AYDIN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Botanik Bilim Dalı

ERZURUM
2016

Her hakkı saklıdır



TEZ ONAY FORMU

**HALOFİTİK BİTKİLERİN KÖK RİZOSFERİNDEN İZOLE EDİLEN HALOTOLERANT
BAKTERİLER KULLANILARAK MISIRDA (*Zea mays* L.) TUZ STRESİ TOLERANSININ
ARTIRILMASI**

Prof. Dr. Ökkeş ATICI danışmanlığında, İhsan AYDIN tarafından hazırlanan bu çalışma 09/02/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı – Botanik Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Üye : Prof. Dr. Yavuz DEMİR

Üye : Doç. Dr. Serkan ERDAL

Üye : Doç. Dr. Arzu GÖRMEZ

Üye : Doç. Dr. Salih MUTLU

İmza :

İmza :

İmza :

İmza :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu'nun 25.02/2016 tarih ve9...../40..... nolu kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 2012-158

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

HALOFİTİK BİTKİLERİN RİZOSFERİNDEN İZOLE EDİLEN HALOTOLERANT BAKTERİLER KULLANILARAK MISIRDA (*Zea mays* L.) TUZ STRESİ TOLERANSININ ARTIRILMASI

İhsan AYDIN

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

Bu araştırmada, halofitik bitkilerin rizosferinden izole edilen halotolerant bakterilerin tuz (NaCl) stresine maruz kalmış mısırdaki (*Zea mays* L.) fizyolojik ve biyokimyasal cevap mekanizmaları üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaç için Tuz Gölü havzasında 6 farklı istasyondan toplanan 17 halofit bitkinin rizosferinden bakteri izole edilmiştir. Bitkilerden toplamda 7 bakteri türüne ait 22 izolat elde edilmiştir. Bakteri izolatlarının tür teşhisleri 16S rRNA dizi analizi yöntemi ile yapılmıştır. Bu izolatlarla yapılan ön denemelerden elde edilen bulgulara göre, çalışmalarda 4 izolat kullanılmıştır. Bu bakteriler *Halomonas arcis* (izolatı; TG-4), *Marinococcus tarijensis* (DT-8), *Halobacillus dabanensis* (TG-12) ve *Kushneria indalinea* (TG-20)'dır. Sıvı besi yerinde çoğaltılan bakteriler, $10^8/10^9$ CFU/ml oranında olacak şekilde mısır tohumlarına inoküle edilmiştir. On beş gün boyunca farklı seviyelerde (75, 150 ve 250 mM) tuz stresine maruz kalan mısır yapraklarında membran hasarı (%EC), lipid peroksidasyon seviyesi, reaktif oksijen türleri ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2) ve prolin miktarları incelenmiştir. Ayrıca enzimatik (katalaz-CAT, süperoksit dismutaz-SOD, guaiakol peroksidaz-POX, askorbat peroksidaz-APX ve glutatyon redüktaz-GR) ve enzimatik olmayan (askorbik asit-AsA ve glutatyon-GSH) antioksidanların seviyeleri ve kök-gövde uzunluğu, kuru madde ağırlığı, mineral (Na^+ , K^+ ve Ca^{+2}) ve klorofil miktarları belirlenmiştir. Bunlara ilave olarak çözünebilir proteinlerin SDS-PAGE profilleri ve kök ile yaprakta nitrat redüktaz (NR) aktivitesi de değerlendirilmiştir. Bulguların değerlendirilmesine katkı olması amacıyla, izole edilen bakterilerin Gram özellikleri, ACC deaminaz aktiviteleri ve azot fiksasyon yetenekleri de araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, ACC deaminaz aktivitesi TG-4 izolatında belirlenmezken, diğer izolatlar pozitif aktivite göstermiştir. Ayrıca TG-4, TG-12 ve TG-20 izolatlarının azot fiksasyonu yapabilen bakteriler olduğu belirlenirken, TG-8 izolatının azot fiksasyonu için negatif olduğu görülmüştür. Tohumlara inoküle edilen izolatlar kök-gövde uzunluk ve kuru ağırlıklarını genellikle artırmıştır. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla meydana gelen membran hasarı (MH), bakteri uygulamaları ile önemli ölçüde azalmıştır. İzolatlar, 150 ve 250 mM tuz uygulaması başta olmak üzere, genellikle H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$ ve malondialdehid (MDA) seviyelerini düşürmüştür. Bakteri inokülasyonu tuzlu şartlarda klorofil miktarını artırmıştır. Artan tuz seviyesi, CAT, SOD, APX ve POX aktivitelerini düşürürken, GR aktivitesini ise artırmıştır. Aynı gruptaki bitkilere bakteri uygulamaları ise aktiviteleri genelde artırmıştır. Ayrıca tuzlu şartlarda artan AsA ve total GSH miktarları bakteri uygulamalarıyla daha fazla artış göstermiştir. Tek başına tuz uygulaması NR aktivitesini ve prolin miktarını artırmıştır. Bakteri+tuz uygulamasında NR aktivitesinde artış gözlenirken, prolin miktarı ise düşmüştür. Genel olarak çalışılan halotolerant izolatlar mısır bitkisinin tuz stresi toleransını artırmıştır ve bu yüzden bitki büyümesini teşvik eden bakteriler (PGPR) grubunda oldukları ileri sürülmüştür. Tez içinde bütün gruplar kendi kontrolü ile kıyaslanmış ve ayrıntılı olarak tartışılmıştır.

2016, 175 sayfa

Anahtar Kelimeler: ACC deaminaz, Antioksidan enzim, Halotolerant bakteri, MDA, Mısır, Nitrat redüktaz, Tuz stresi, PGPR, Tuz Gölü

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

ENHANCING SALT STRESS TOLERANCE IN MAIZE (*Zea mays* L.) BY USING HALOTOLERANT BACTERIA ISOLATED FROM RHIZOSPHERE OF HALOPHYTIC PLANTS

İhsan AYDIN

Atatürk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Department of Botany

Supervisor: Prof. Dr. Ökkeş ATICI

In this study, the effects of halotolerant bacteria isolated from rhizosphere of halophytic plants were investigated on the physiological and biochemical response mechanisms to the salt stress (NaCl) of maize (*Zea mays* L.). For this aim, 17 halophytic plants were collected from 6 different stations in the basin of Salt Lake (Turkey) and bacteria were isolated from rhizosphere of the plants. It was obtained 22 isolates belonging to 7 bacterium species from the plants. Identifications of the isolated bacteria were made according to the 16S rRNA sequencing method. After preliminary experiments, 4 of isolates were selected in order to use in the later stages of the present study. These isolates were *Halomonas arcis* (isolate; TG-4), *Marinococcus tarijensis* (DT-8), *Halobacillus dabanensis* (TG-12) and *Kushneria indalinina* (TG-20). The bacteria developed in Tryptic Soy Broth (TSB) was washed by using 100 mM MgSO₄ solution and then was inoculated ($10^8/10^9$ CFU/ml) to maize seeds. Membrane damage, level of lipid peroxidation, contents of reactive oxygen species (ROS) and proline were determined in the leaves of maize exposed to different levels of salt stress (75, 150 and 250 mM) for 15 days. Furthermore, the levels of enzymatic (catalase-CAT, superoxide dismutase-SOD, guaiacol peroxidase-POX, ascorbate peroxidase-APX and glutathione reductase-GR) and non-enzymatic (ascorbic acid-ASA and glutathione-GSH) antioxidants, root-stem length, dry matter weight, and the contents of minerals (Na⁺, K⁺ and Ca²⁺) and chlorophyll were determined. Additionally, SDS-PAGE profiles of soluble proteins in the leaves, and nitrate reductase (NR) activity in both leaves and roots were evaluated. As with bacteria, Gram properties, ACC deaminase activities and nitrogen fixation abilities of the isolated bacteria were also investigated. Most of the isolates inoculated to the seeds generally increased the root-stem length and dry weight in the maize seedlings. Membrane damage (MD) increased by the salt concentrations was decreased significantly with the bacterial applications. Application of the isolates decreased the levels of H₂O₂, superoxide anion and malondialdehyde (MDA) in especially 150 and 250 mM salt conditions, and increased the chlorophyll content in the salty conditions. The salt concentrations decreased the activities of CAT, SOD, APX and POX and increased that of GR but the bacteria applications in the same conditions generally increased their activities. In addition, the increased ASA and total GSH levels by the salt applications showed more increasing with the bacteria applications. The salt applications alone increased NR activity and the content of proline. Salt+bacteria applications, however, increased NR activity while decreased proline content. Isolate TG-4 was negative for ACC deaminase activity while others were positive. Isolates TG 4, 12 and 20 were in capable of nitrogen fixation except TG-8. The present study showed that the halotolerant isolates could increase the salt stress tolerance of the maize seedlings, and therefore it is suggested that they have potential to be used as plant growth promoting rizobacteria (PGPR). All groups are compared to their controls and are discussed in the thesis in detail.

2016, 175 pages

Keywords: ACC deaminase, Antioxidant enzyme, Halotolerant bacteria, Maize, MDA, Nitrate reductase, PGPR, Salt Lake, Salt stress

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunmuş olduğum bu çalışma, 2012-158 no'lu Atatürk Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiş ve Fen-Fakültesi, Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır.

Tez konusunun seçilmesinden yürütülmesi ve sonuçlandırılmasına kadar her aşamada fikirlerinden faydalandığım, çalışmalarımdeki her türlü emek ve bilgi desteğini üzerimden eksik etmeyen, kimi zaman bir hoca kimi zaman ise bir baba gibi benimle ilgilenen ve benim için çok değerli olan hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ökkeş ATICI'ya yardım ve emeklerinden dolayı en kalbi duygularımla teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında ilgi, yardım ve desteğini gördüğüm, tez izleme komitesinde bulunan Sayın Prof. Dr. Yavuz DEMİR'e ve Sayın Doç. Dr. Serkan ERDAL'a, ayrıca benimle her türlü bilgi ve deneyimlerini paylaşan Sayın Doç. Dr. Salih MUTLU'ya ve ekibine, bitkilerin toplanmasında ve teşhis edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Erzincan Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Ali KANDEMİR'e ve Sayın Arş. Gör. Veli İLHAN'a, tohumları temin ettiğimiz MAY Tohumculuğa teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarım esnasında yanımda olan ilgi ve desteğini esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım, Doç. Dr. Mesut TAŞKIN'a, Yard. Doç. Dr. Nevzat ESİM'e, Deniz TİRYAKİ'ye, Öğr. Gör. Rahman KILIÇ'a, Hüseyin KANBUR'a, İsmail DEMİREL'e ve değerli abim Hayati LÖK'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca ihmal etmeme rağmen her daim yanımda olan, her türlü sıkıntılara katlanan ve bana güç veren sevgili eşim Tuba AYDIN'a, yavrularım Muhammed Said AYDIN ve Fatma Sena AYDIN'a, bu günlere gelmemde her daim yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen babama, anneme ve kardeşlerime şükranlarımı sunuyorum.

İhsan AYDIN

Şubat 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİN.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	21
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	41
3.1. Materyal.....	41
3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar	41
3.1.2. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanmaları.....	42
3.2. Yöntemler	48
3.2.1. Halofit bitkilerin toplanması, örneklenmesi ve teşhisi	48
3.2.2. Bakterilerle ilgili deneyler	51
3.2.2.a. Bitki rizosferinden bakteri izolasyonu ve saflaştırılması	51
3.2.2.b. Bakterilerin tanılanması	52
3.2.2.c. Gram reaksiyon testi	52
3.2.2.d. ACC deaminaz enzim aktivitesinin belirlenmesi	53
3.2.2.e. Azot fiksasyonu yapan bakterilerin belirlenmesi	53
3.2.2.f. Çalışılacak izolatların seçimi	54
3.2.2.g. İnokulumların hazırlanması.....	55
3.2.3. Tohumların sterilizasyonu ve inokülasyonu.....	56
3.2.4. Bitkilerin büyütülmesi	57
3.2.5. Bitki büyüme parametreleri.....	57
3.2.6. Bitki örneklerinin element içerikleri	58
3.2.7. Membran hasarının ölçülmesi	58
3.2.8. Çözünabilir protein miktarının belirlenmesi	59
3.2.9. Lipid peroksidasyon seviyesinin belirlenmesi	60

3.2.10. Hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarının belirlenmesi	61
3.2.11. Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$) miktarının belirlenmesi	62
3.2.12. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	63
3.2.12.a. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi	64
3.2.12.b. Guaiakol peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi	65
3.2.12.c. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini	66
3.2.12.d. Askorbat peroksidaz aktivitesi tayini	66
3.2.12.e. Glutasyon redüktaz aktivitesi tayini	67
3.2.13. Enzimatik olmayan antioksidanların miktarlarının belirlenmesi	67
3.2.13.a. Total glutasyon içeriğinin belirlenmesi	67
3.2.13.b. Askorbik asit (AsA, Total AsA, DHA) içeriğinin belirlenmesi	68
3.2.14. Prolin miktarının belirlenmesi	70
3.2.15. Total klorofil içeriğinin belirlenmesi	71
3.2.16. Nitrat redüktaz enzim aktivitesi tayini	72
3.2.17. SDS-poliakrilamid jel elektroforezi	73
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	75
4.1. Çalışılan Halofit Bitkiler	75
4.2. İzole Edilen Halofil Bakteriler	77
4.3. Kök ve Gövde Uzunluğuna Ait Bulgular	81
4.4. Kök ve Gövde Kuru Ağırlığına Ait Bulgular	84
4.5. Membran Hasarı Sonuçları	87
4.6. Mineral İçeriği Sonuçları	88
4.7. Lipid Peroksidasyon Seviyesi (MDA Miktarı) Bulguları	96
4.8. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Miktarına Ait Bulgular	98
4.9. Süperoksit Anyonu ($O_2^{\bullet-}$) Miktarı Bulguları	100
4.10. Antioksidanların Aktivitelerine Ait Bulgular	101
4.10.1. Enzimatik antioksidan aktivitelerine ait bulgular	101
4.10.1.a. Katalaz (CAT) aktivitesi bulguları	101
4.10.1.b. Guaiakol peroksidaz (POX) aktivitesi bulguları	103
4.10.1.c. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi bulguları	105
4.10.1.d. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi bulguları	106
4.10.1.e. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesi bulguları	108

4.10.2. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerine ait bulgular	109
4.10.2.a. Total glutatyon (GSH) miktarına ait bulgular	109
4.10.2.b. Askorbik asit içeriği bulguları	111
4.11. Prolin Miktarına Ait Bulgular	117
4.12. Klorofil a, Klorofil b ve Total Klorofil Miktarı Bulguları	119
4.13. Nitrat Redüktaz (NR) Aktivitesi Sonuçları	123
4.14. Proteinlerin SDS-PAGE ile Değerlendirilmesine Ait Bulgular	126
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	131
KAYNAKLAR	151
ÖZGEÇMİŞ	176

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
ACC	: 1-aminosiklopropan 1-karboksilat
APX	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbik asit
BCA	: Bişinkonik asit
CAT	: Katalaz
E.C.	: Enzim kod numarası
E.Ü.	: Enzim ünitesi
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
FAO	: Food and Agriculture Organization
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
kDA	: Kilo dalton
LPO	: Lipid peroksidasyon
MDA	: Malondialdehid
MH	: Membran hasarı
mM	: Milimolar
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
$\text{OH}^{\bullet}$	: Hidroksil radikali
POX	: Guaiakol Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. ROT oluşumu ve ortadan kaldırılmalarını özetleyen şema	13
Şekil 3.1. Çalışma alanı uydu görüntüsü	49
Şekil 3.2. Çalışma alanı haritası.....	50
Şekil 3.3. Çalışma alanından bir kesit (Tersakan Gölü)	50
Şekil 3.4. Protein tayininde kullanılan standart grafik.....	60
Şekil 3.5. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik ...	62
Şekil 3.6. Süperoksit anyonu miktarlarını belirlemede kullanılan standart grafik	63
Şekil 3.7. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik	65
Şekil 3.8. Glutasyon içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik.....	68
Şekil 3.9. Askorbik asit içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik	70
Şekil 3.10. Prolin miktarı hesaplamada kullanılan standart grafik	71
Şekil 3.11. Nitrat redüktaz miktarını belirlemede kullanılan standart grafik	73
Şekil 4.1. Tuz Gölü'nde toplanan halofitik bitkiler	76
Şekil 4.2. Teşhisi yapılan izolatların filogenetik ilişkileri	79
Şekil 4.3. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kök uzunluğuna etkisi	82
Şekil 4.4. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının gövde uzunluğuna etkisi	83
Şekil 4.5. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kök kuru ağırlığı üzerine etkisi	85
Şekil 4.6. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının gövde kuru ağırlığı üzerine etkisi	86
Şekil 4.7. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının EC üzerine etkileri	88
Şekil 4.8. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta Na ⁺ iyon miktarına etkisi	90
Şekil 4.9. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte Na ⁺ iyon miktarına etkisi	91
Şekil 4.10. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta K ⁺ iyon miktarına etkisi	92
Şekil 4.11. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte K ⁺ iyon miktarına etkisi	93
Şekil 4.12. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta Ca ⁺² iyon miktarına etkisi	95
Şekil 4.13. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte Ca ⁺² iyon miktarına etkisi	96
Şekil 4.14. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının MDA miktarına etkisi	98
Şekil 4.15. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda H ₂ O ₂ seviyesine etkisi.....	99
Şekil 4.16. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının O ₂ ⁻ anyonu miktarına etkisi.....	101
Şekil 4.17. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda CAT aktivitesi değerleri..	103

Şekil 4.18. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda POX aktivitesi değerleri..	104
Şekil 4.19. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda SOD aktivitesi değerleri..	106
Şekil 4.20. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda APX aktivitesi değerleri..	107
Şekil 4.21. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda GR aktivitesi değerleri	109
Şekil 4.22. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda total GSH üzerine etkisi ..	111
Şekil 4.23. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda total AsA miktarına etkisi	113
Şekil 4.24. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının DHA miktarına etkisi	115
Şekil 4.25. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda AsA miktarına etkisi	117
Şekil 4.26. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi	119
Şekil 4.27. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının klorofil a miktarı üzerine etkisi.....	121
Şekil 4.28. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının Klorofil-b miktarına etkisi	122
Şekil 4.29. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının total klorofil üzerine etkisi	123
Şekil 4.30. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda NR aktivitesine etkisi	125
Şekil 4.31. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte NR aktivitesi üzerine etkisi	126
Şekil 4.32. Tek başına bakteri izolatları uygulanmış mısır yapraklarına ait çözünebilir proteinlerinin profili	127
Şekil 4.33. Kontrol olarak 75 mM tuz ve bakteri+75 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında proteinlerin profili üzerine etkileri	128
Şekil 4.34. Kontrol olarak 150 mM tuz ve bakteri+150 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında çözünebilir proteinlerinin profili üzerine etkileri.....	129
Şekil 4.35. Kontrol olarak 250 mM tuz ve bakteri+250 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında çözünebilir proteinlerinin profili üzerine etkileri.....	130

ÇİZELGELER DİZİN

Çizelge 1.1. Toprak tuz düzeylerine göre bitki duyarlılıkları	3
Çizelge 1.2. Halofil bakterileri tuza karşı verdikleri cevaplar	15
Çizelge 3.1. Bitki örneklerinin lokasyon bilgileri.....	48
Çizelge 3.2. Bakteri ekimi yapılan farklı besiyerleri	54
Çizelge 4.1. Bakterilerin izole edildiği halofitik bitkiler ve habitatları	75
Çizelge 4.2. Halofitik bitkilerden izole edilen halofil bakteriler ve izolat numaraları ...	78
Çizelge 4.3. Bakteri izolatları ve bazı fizyolojik özellikleri	80
Çizelge 4.4. Kök uzunluğu (cm/fide) sonuçları	82
Çizelge 4.5. Gövde uzunluğu (cm/fide) sonuçları	83
Çizelge 4.6. Kök kuru ağırlık (mg/fide) sonuçları	84
Çizelge 4.7. Gövde kuru ağırlık (mg/fide) sonuçları	86
Çizelge 4.8. Elektriksel iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) sonuçları	87
Çizelge 4.9. Yaprakta Na^+ iyonu miktarları.....	89
Çizelge 4.10. Kökte Na^+ iyonu miktarları	90
Çizelge 4.11. Yaprakta K^+ iyonu miktarları	92
Çizelge 4.12. Kökte K^+ iyonu miktarları	93
Çizelge 4.13. Yaprakta Ca^{+2} iyonu miktarları	94
Çizelge 4.14. Kökte Ca^{+2} iyonu miktarları	95
Çizelge 4.15. MDA miktarı sonuçları.....	97
Çizelge 4.16. Hücresel H_2O_2 seviyesi sonuçları	99
Çizelge 4.17. Süperoksit anyonu miktarı sonuçları	100
Çizelge 4.18. CAT aktivitesi sonuçları	102
Çizelge 4.19. POX aktivitesi sonuçları	104
Çizelge 4.20. SOD aktivitesi sonuçları	105
Çizelge 4.21. APX aktivitesi sonuçları	107
Çizelge 4.22. GR aktivitesi sonuçları	108
Çizelge 4.23. Total GSH miktarı bulguları.....	110
Çizelge 4.24. Total AsA miktarı bulguları.....	112
Çizelge 4.25. DHA miktarı bulguları.....	114

Çizelge 4.26. AsA miktarı bulguları	116
Çizelge 4.27. Prolin miktarı bulguları	118
Çizelge 4.28. Klorofil-a miktarı bulguları	120
Çizelge 4.29. Klorofil b miktarı bulguları	121
Çizelge 4.30. Total klorofil miktarı sonuçları.....	122
Çizelge 4.31. Yaprakta NR aktivitesi bulguları	124
Çizelge 4.32. Kökte NR aktivitesi bulguları.....	125



1. GİRİŞ

Stres kelimesi genelde insanlar ve hayvanlar için kullanılmasına rağmen, bitkiler de strese girer ve stresli koşullarda önemli bitkisel hasarlar ortaya çıkar. Metabolizmanın bozulması sonucu meydana gelen olumsuzluklardan dolayı bitkinin veya bitki organlarının büyüme, gelişme ve veriminde azalma olacağı gibi, doku ölümleri hatta bitkiş ölümleri de gerçekleşebilir. Günümüzde abiyotik stres koşullarına maruz kalan bitkilerde yüksek oranlarda meydana gelen ürün kaybı, insan ve hayvan beslenmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Maynard and David 1987; Taiz and Zeiger 2008). Diğer taraftan, dünya nüfusunun sürekli ve hızlı bir şekilde artması ve bu artışa paralel temel ihtiyaçların çeşitlenmesi, insanların topraklar üzerindeki baskısını sürekli olarak artırmasına yol açmaktadır. Bu baskılar sonucu sürekli olarak yanlış kullanılan topraklarda bitkisel stres etkilerini daha da artıran önemli sorunlar ortaya çıkmaktadır (Mazı ve Tan 2009). En önemli abiyotik stres faktörlerinden biri olan tuzluluk, özellikle kurak ve yarı kurak alanlarda etkisini gösteren problemler arasındadır. Dünyada sulanan alanların yaklaşık yarısı taban suyu yükselmesi, tuzluluk ve alkalilik etkisi altındadır. Food and Agriculture Organization'a (FAO) göre (1988), kurak ve yarı kurak bölgelerde tuzdan etkilenmiş alanlar neredeyse 1 milyar hektarı geçmiştir (Ağar ve Ağar 2011). Ekilebilir arazilerdeki artan tuzluluğun küresel etkileri arasında gelecek 25 yılda %30 oranında toprak ve dolayısıyla ürün kaybına neden olacağı, 2050'ye kadar da bu oranın %50'leri bulacağı tahmin edilmektedir (Wang *et al.* 2003). Türkiye'de mevcut tarım arazilerinin 1.633 milyon hektarlık bölümünde tuzluluk (çoğunlukla NaCl) problemi yaşanmaktadır (Ağar ve Ağar 2011). Bu, sulamaya uygun arazilerin yaklaşık %32,5'ine denk gelmektedir (Ağar ve Ağar 2011). Özellikle tarımsal alanlarda etkisini gösteren tuzluluk, toprak yapısını bozarak bitkilerin ürün kalitesi ve veriminde önemli kayıplara yol açmaktadır (Chinnusamy *et al.* 2005). Toprak çözeltisinde tuz yoğunluğunun artmasına paralel olarak su potansiyelinin azalması, bitki hücrelerinde ozmotik potansiyelin düşmesine neden olur. Dolayısıyla tuz stresi yoğunluk ve etki süresine bağlı olarak bitkilerde büyüme, gelişme, çimlenme, fotosentez, hücre bölünmesi ve daha birçok biyolojik olayları etkilemektedir (Taiz and Zeiger 2008). Yüksek yoğunluktaki tuz seviyesi bitkide iyon dağılımı ve su potansiyelini de

değiştirerek homeostasinin bozulmasına yol açar (Demiral and Türkan 2005). Bu semptomları genellediğimizde, tuzun bitki üzerindeki olumsuz etkilerini 3 şekilde toparlayabiliriz.

1. Fiziksel etki; ozmotik potansiyelin düşmesi sonucu bitkinin su alımı ve dolayısıyla beslenmesi yavaşlar veya tamamıyla durur. Bitki su alımında güçlük çeker. Bu olaya ozmotik etki denir.
2. Kimyasal etki (toksik etki); özellikle Na^+ iyonlarının bitkide yüksek yoğunlukta bulunması toksik etki meydana getirmektedir.
3. Dolaylı etki; tuzluluğun toprak yüzeyinde meydana getirdiği değişiklikler, bitkilerin gelişmesine olumsuz etki eder (Ekmekçi vd 2005; Kocaçalışkan 2008).

Kurak ve yarı kurak alanlarda hem yağış azlığı hem de evaporasyon nedeniyle su kaybı olması toprak ve toprak yüzeyinde tuz birikimine yol açar (Deinlein *et al.* 2014). Ayrıca iyi bir drenaj sağlanmayan topraklarda bilinçsiz sulama toprak tuzluluğunu artırmaktadır. Sulama suyunda ve taban suyunda bulunan tuzlar zaman içerisinde toprak yüzeyine çıkarak tuzluluğun ve dolayısıyla çoraklaşmanın artmasına neden olurlar (Kocaçalışkan 2008; Kacar vd 2009). Tuzluluk, sularda veya toprakta var olan çeşitli çözülmüş mineral tuzların yoğunluğundan ileri gelmektedir. Toprak ve su tuzluluğundaki artış ise başta toprak suyunun yarayışlılığı olmak üzere çimlenme, büyüme, gelişme ve verim kaybına neden olmaktadır (Ünlükara vd 2006). Sulama suyunda bulunan yüksek tuz yoğunluğu da toprak çözeltisinin ozmotik potansiyelini düşürerek bitki köklerinin su almasını engeller. Fizyolojik kuraklık olarak adlandırılan bu durum nedeniyle toprakta su bulunmasına rağmen bitki kökleri bu sudan faydalanamaz (Kadayıfçı 2004). Yoğun Na^+ konsantrasyonu, bitki büyüme ve gelişmesinde önemli bir rolü olan K^+ iyonu alınımını inhibe ederek dokularda hasara ve sonuçta ürün kaybına neden olmaktadır (James *et al.* 2011). Fotosentetik dokularda tuzluluğun artışına bağlı olarak; tilakoid zarlarda büzülme, bitişik grana membranlarında yığılma, klorofillerde ve PSII'de parçalanma meydana gelir (Ashraf and Harris 2004). Tilakoyitlerdeki elektron taşıma sisteminin aktivitesi de yüksek tuzlulukta azalmaktadır (Parida *et al.* 2003). Tuz stresi altındaki baklagil bitkilerde

nitrat redüktaz aktivitesi ve nodül oluşumu azalmaktadır (Wahab and Zahran 1981). Yine tuzluluğun neden olduğu yapraklarda erken yaşlanmaya paralel olarak, protein ve klorofil yoğunluğunda azalma, zar geçirgenliğinde ise artma meydana gelmektedir (Golezani *et al.* 2009).

Bitkiler tuza dayanıklılık bakımından farklı gruplara ayrılmaktadır. Tuzlu topraklarda yaşamaya adapte olmuş bitki türlerine halofitik bitkiler adı verilir. Bunlar 300 mmol NaCl'den daha yüksek miktardaki tuza toleranslı olan bitkilerdir. Tuzluluğa hassas olan bitki türleri ise glikofitler olarak bilinir ve bunlar da 100-200 mmol NaCl'ye kadar olan miktardaki tuza toleranslıdır. Toprak tuz düzeylerine göre bitki duyarlılıkları Çizelge 1.1'de verilmiştir (Saruhan vd 2008). Doğal ortamında yaşayan yabani bitkilerin çoğunda tuz toleransı yüksekken, kültür bitkilerinde bu oran oldukça düşüktür (Nagaoka and Takago 2003).

Çizelge 1.1. Toprak tuz düzeylerine göre bitki duyarlılıkları

TUZLULUK (EC_e, dS/m)	BİTKİ TEPKİSİ
0-0.98 Çok az tuzlu	Tuzluluk etkisi genellikle önemsizdir
0.98-1.71 Az tuzlu	Hassas bitkilerde verim kaybı
1.71-3.16 Tuzlu	Çoğu bitkide verim kaybı
3.16-6.07 Çok tuzlu	Dayanıklı türlerde normal ürün verir
>6.07 Aşırı tuzlu	Çok dayanıklı birkaç bitki ürün verebilir

*EC_e; çamur süzüğü, dS/m; tuz konsantrasyonu (Saruhan vd 2008)

Mısır, pirinç, fasulye ve soya başta olmak üzere özellikle tarımı yapılan birçok bitki türü, glikofitler içerisinde bulunur (Mahajan and Tuteja 2005; Gupta and Huang 2014). Halofitlerin glikofitlere göre bazı üstünlükleri vardır. Örneğin tuzlu topraklarda yaşamaya adapte olmuş halofitik bitki türlerinin tuz iyonlarını alma kapasitesi glikofitlerden çok daha düşük olduğu belirlenmiştir. Buna ilave olarak, bazı halofitlerin yapraklarında bulunan özelleşmiş hücreler, oluşturdukları tuz bezleriyle komşu hücrelerden aldıkları tuzu yaprak yüzeyine taşıyarak yağmur veya rüzgâr vasıtasıyla bitkiden uzaklaştırırlar. Buna en iyi örnek Tuz Sediri (*Tamarix* sp) ve deniz suyundan

daha yoğun tuzlu ortamlarda (500 mM NaCl) yaşayabilen Tuz Çalısı'dır (*Atriplex* sp) (Yılmaz 2015). Genellikle çoğu bitki çimlenme ve erken fide gelişim dönemleri tuza karşı oldukça hassastır. Ancak tuz direnci büyüme ve gelişmenin sonuna doğru artmaktadır.

Yağışlı bölgelerde tuzlar yıkanarak yer altı sularına karışıp denizlere taşınması nedeniyle genellikle bu bölgelerde tuzluluğa (salinizasyon) rastlanmaz. Ancak yağış oranının düşük olduğu alanlarda toprakların tuzlanması giderek artmakta ve arındırılmaları mevcut tekniklerle ya çok pahalı ya da mümkün olamamaktadır. Bu alanların tarımsal açıdan değerlendirilmesinde ekonomik olan yöntemlerden biri tuza toleranslı bitki tür ve çeşitlerinin seleksiyonu veya tuza duyarlı bitkilerin tuz stresi toleranslarının artırılmasıdır (Khalid *et al.* 2001). Tuzlu topraklarda bitkilerin yaşamsal faaliyetlerini yerine getirebilmeleri için çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal cevap mekanizmalarına sahip oldukları bilinmektedir (Gupta and Huang 2014). Bunların başında tuz stresine maruz kalan bitkilerde ozmotik dengeyi sağlamak için hücrelerde moleküler ağırlığı düşük olan çeşitli ozmolitler yüksek miktarlarda biriktirilir. Örneğin, birçok bitkide tuz stresi altında şeker, prolin ve glisin-betain gibi bileşiklerin içsel seviyelerinde önemli artışlar görülür (Mahajan and Tuteja 2005; Parida and Das 2005). Özellikle glisin-betain ve prolin, bitkiler dâhil birçok farklı organizmada ozmotik düzenlemede önemli rol oynarlar (Hoque *et al.* 2007; Banu *et al.* 2009). Aşırı tuzluluk, sıcaklık ve pH gibi stres şartlarında glisin-betainin bir ozmolit görevi üstlenerek birçok proteinin yanında kloroplastta PSII sistemini koruduğu rapor edilmiştir (Türkan and Demiral 2009).

Diğer taraftan, her çevresel strese olduğu gibi, tuz stresi altındaki bitkilerin strese cevap mekanizmalarından en önemlisi, **Reaktif Oksijen Türlerinin (ROT)** süpürülmesini sağlayan metabolik yolların hücrelerde aktive olmasıdır. Çünkü ROT kimyasal yapı itibarıyla yüksek derecede reaktif bileşikler olup bitkiler için toksiktir. ROT'lar protein, lipid, DNA, karbohidratlar ve diğer birçok biyomolekülleri oksitleyerek doğal yapılarının bozulmasına ve dolayısıyla metabolik düzensizliklere yol açar (Noctor *et al.* 2002; Apel and Hirt 2004; Banu *et al.* 2009; Guo *et al.* 2009). Özellikle doymamış yağ

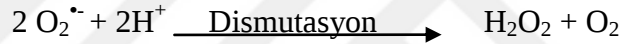
asitleri ve kükürt içeren aminoasit barındıran proteinler ROT'lerden diğer bir ifadeyle serbest radikallerden çok çabuk etkilenirler (Gutteridge 1995). ROT bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok reaktif moleküller olarak tanımlanırlar. Bunlar arasında süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), singlet oksijen (1O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) en önemlileridir. Her ne kadar ROT'lar normal şartlar altında üretilse de hücrelerde içsel seviyeleri düşük tutulmaktadır (Polle 2001). Ancak stres şartları altında ROT'ların miktarlarında ciddi seviyelere varan artış gerçekleşmektedir (Laloi *et al.* 2004; Piotrovskii *et al.* 2011). Özellikle tuz stresi kloroplastik ve mitokondriyal ETS sistemleri üzerinde olumsuz etkiler meydana getirerek yüksek oranda ROT oluşumuna neden olmaktadır. Normal şartlar altında süperoksit anyonu üretimi $240 \mu M$ ve H_2O_2 üretimi $0.5 \mu M$ olmasına karşın, tuz stresi altındaki bitkide $O_2^{\bullet-}$ radikali üretimi $720 \mu M$, H_2O_2 'inin ise $15 \mu M$ 'a yükseldiği rapor edilmiştir (Polle 2001; Dat *et al.* 2003).

Literatürlerde ROT'ların bitki büyümesi ve fizyolojisi üzerine zararlı etkilerine dair birçok çalışma verilmekle birlikte; ROT'ların hücre sinyalizasyonu, gen düzenlenmesi, yaşlanma, programlanmış hücre ölümleri ve hatta patojenlere karşı savunma gibi birçok önemli fizyolojik olayda da rol oynadıkları bildirilmiştir (Kosack and Jones 1996; Grant and Loake 2000; Breusegem *et al.* 2001; Neill *et al.* 2002; Dat *et al.* 2003; Laloi *et al.* 2004; Gechev *et al.* 2006). Örneğin H_2O_2 patojenler için toksik olması nedeniyle apoplastlarda bulunması fayda verebilir (Smirnoff 2000). Sistemik kazanılmış dirençte gen transkripsiyonu ile etkin bir rol oynar ve bitkinin hastalıklı bölgesindeki hücrelerin ölmesini (kontrollü hücre ölümü) sağlayarak patojen organizmanın yayılışını engeller (Horemans *et al.* 2000).

Süperoksit anyonu ($O_2^{\bullet-}$), mitokondriyal ETS veya kloroplastta PSI ve PSII'nin çalıştığı ETS sisteminde rol alan moleküler O_2 'nin, elektron alarak indirgenmesi sonucu oluşan kararsız bir radikaldir. Bu radikal doğrudan zarar vermesi düşük olmakla birlikte, H_2O_2 'in kaynağı olması ve geçiş metal iyonlarını indirgemesi nedeniyle zarar vermektedir (Lee *et al.* 2004; Büyük vd 2012). Ozmotik stres sonucu stomalarda meydana gelen CO_2 seviyesinin kısıtlanması, kloroplastlarda süperoksit anyonu

birikimini yükseltir. Bu olay fotooksidatif hasara neden olur (Asami and Akazawa 1978). Ayrıca bu radikal sitoplazma, mitokondri ve nukleus gibi organellerin membranlarında da hasara neden olmaları sebebiyle lipid peroksidasyonunu başlatarak membran permeabilitesini bozar (Bhattacharya 2015). Süperoksit anyonu düşük asidik değerlerde enzimatik olmadan da dismutasyona uğrayarak H_2O_2 oluşturabilmektedir (Büyük vd 2012).

Hidrojen proksit, $O_2^{\bullet-}$ anyonunun bir elektron alması veya O_2 'nin iki elektron alması sonucu oluşan peroksidin iki proton (H^+) ile birleşmesinden meydana gelmektedir. Biyolojik sistemlerdeki dismutasyon reaksiyonunda, 2 $O_2^{\bullet-}$ molekülü, 2 H^+ alarak H_2O_2 ve O_2 oluşturmaktadır (Yılmaz vd 2011).



Eşleşmemiş elektron içermediğinden dolayı radikal olmayan hidrojen peroksit, hücre içerisine kolayca diffüze edebilmesi nedeniyle uzun ömürlü bir oksidandır. Gerek süperoksit varlığında ve gerekse de metal iyonları varlığında çok reaktif ve hasar verici olan hidroksil radikaline dönüşebilmektedir (Halliwell *et al.* 2000). Hidrojen peroksitin programlı hücre ölümlerinde de rol aldığı bilinmektedir (Gadjev *et al.* 2008). Hidrojen peroksitin güçlü bir Calvin döngüsü inhibitörü olması nedeniyle süperoksit anyonunun hidrojen peroksite dönüşümü oldukça risklidir (Shen *et al.* 1997). İlginç bir şekilde hidrojen peroksit, antioksidan enzimlerde artışlara neden olabilir (Sairam and Srivastava 2000; Shigeoka *et al.* 2002). Peroksizom ve glioksizomlarda meydana gelen H_2O_2 herhangi bir indirgeyiciye gerek kalmadan katalaz tarafından etkisiz hale getirilirken, kloroplastlarda meydana gelen H_2O_2 ise indirgeyici olarak askorbatı kullanan ve H_2O_2 'e ilgisi yüksek olan askorbat peroksidaz tarafından veya glutatyon peroksidaz tarafından detoksifiye edilir (Navrot *et al.* 2006; Ning *et al.* 2015). Süperoksit radikali lipidlerde az çözünürken, hidrojen peroksit daha fazla çözünür. Bu nedenle hidrojen peroksit üretildiği yerden daha uzaklarda da olsa, Fe^{+2} içeren biyomoleküller üzerinde etkisini gösterebilir (Akkuş 1995).

Oksijen radikalleri içerisinde en reaktif ve en toksik olan **hidroksil (OH[•]) radikali**, su dâhil rastladığı her molekülle tepkimeye girebilir. Bütün bu tepkimeler OH[•]'ın paylaşılmamış elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisinden kaynaklanır (Halliwell and Gutteridge 1984). Hidroksil radikalının sebep olduğu en önemli hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur. OH[•]'ın başlıca hedefi doymamış yağ asitleridir ve zar lipidlerinin peroksidasyonu zarın yapısını bozar ve geçirgenliğini bozup hücre ölümüne sebep olabilir (Akkuş 1995; Nishiyama *et al.* 1998). Çok kısa yarılanma ömrüne rağmen ortamdaki hemen her biyomolekülle büyük hasar oluşturabilecek tepkimelere girebilmektedir (Akkuş 1995). Ayrıca DNA ve proteinler gibi biyomakromoleküllerin elektronegatifliklerinden dolayı onlarla kolayca etkileşir ve oksidatif hasara neden olur. Hücre içi hidroksil radikalını elemine edecek molekülün etkili olabilmesi için miktarının bu molekülden daha fazla olması gerekmektedir. Bu sebepten, hidroksil radikali oluşumunun önlenmesi, temizlenmesinden daha önceliklidir (Akkuş 1995). Hücrede O₂^{•-} ve H₂O₂, hidroksil radikalını meydana getirmek üzere bir araya gelir. Bu Haber-Weiss reaksiyonu (a) olarak adlandırılır. Yavaş ilerleyen bu reaksiyonun ortamda demir veya bakır iyonları olduğu zaman hızlanmasına ve de hasar oranını daha da fazla artırmasına ise Fenton reaksiyonu (b) adı verilmektedir (Bandyopadhyay *et al.* 1999).



ROT'un diğer bir formu olan **tekli oksijen (¹O₂)** moleküler oksijenin yüksek enerjiyle uyarılmış formudur. Üzerinde ortaklaşmamış elektronu bulunmadığı için radikal özelliği yoktur. Fakat oksidan özelliği oldukça yüksektir. Kaynağı fotosentez reaksiyonları esnasında meydana gelen elektron transport sistemindeki klorofil pigmentleridir (Gill and Tuteja 2010). Hücre zarındaki bulunan doymamış yağ asitleriyle etkileşime geçerek farklı lipid peroksidasyon moleküllerini oluştururlar (Banu *et al.* 2009; Guo *et al.* 2009).

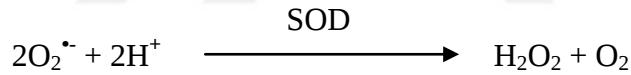
Yukarıda sıralanan ROT'ların belki de bilinen en önemli etkileri hücre zarı bileşenlerinde bulunan doymamış yağ asitlerinde **lipid peroksidasyonu (LPO)** adı

verilen bir oksidasyona neden olmalarıdır. LPO ile oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (Akkuş 1995). Biyolojik sistemlerde LPO'yu başlatan serbest radikalin, süperoksit anyonu ve özellikle de hidroksil radikali olduğu kabul edilmektedir. Serbest radikal etkisi ile yağ asidi zincirinden hidrojen atomunun uzaklaşması, bu yağ asidinin de radikal özelliği kazanmasına neden olmaktadır. Böylece oluşan lipid radikali dayanıksız bir bileşiktir. Molekül içi konjuge edilen bağlarının farklı pozisyonlara gelmesi ile değişikliğe uğrayabilen kararsız lipid radikalının moleküler oksijenle tepkimesi sonucu lipid peroksit radikali meydana gelir (Spiteller 2001). Bu olayın en önemli ürünü malondialdehittir (MDA) (Çelikezen ve Ertekin 2009). Membranlarda MDA meydana gelmesi sonucu zarda bulunan moleküller çapraz bağlanma yaparak elektrolitlere karşı membran permeabilitesi artırır. MDA özellikle üç veya daha fazla çift bağ içeren (poliansature) yağ asitlerinin peroksidasyonunda meydana gelir (Pamplona 2008; Ayala *et al.* 2014). MDA yağ asidi oksidasyonunun spesifik yada kantitatif bir indikatörü değildir, fakat lipid peroksidasyonunun derecesi ile iyi bir korelasyon gösterir. Bu sebeple organizmada oluşan LPO düzeyini ölçmek için MDA seviyelerinin ölçümü, sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (Heath and Packer 1968). MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve oluşan bu çözeltinin absorbans değerlerinden LPO'nun derecesi saptanabilmektedir (Kumar and Knowles 1993).

Bitkiler stres koşullarında yüksek seviyede üretilen ROT'lardan hücreyi korumak amacıyla enzimatik olmayan (askorbat, glutatyon, karotenoidler, α - tokoferol) ve enzimatik olan (katalaz, peroksidaz, glutatyon redüktaz, süperoksit dismutaz) birçok antioksidanlar içerirler (Gechev *et al.* 2006; Gill and Tuteja 2010; Jha *et al.* 2011). Bu antioksidanlar ya ROT'ları süpürerek ya da oluşumlarını engelleyerek etkili olurlar (Şenses vd 1999). Stres şartları altında antioksidan enzimlerle ROT arasındaki ilişki birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiş ve bitkinin yaşamını devam ettirebilmesi artan ROT bileşiklerini süpürebilme kapasitesi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Türkan *et al.* 2005; Erdal *et al.* 2014; Yildiztugay *et al.* 2014). Stres koşullarına cevapta bitkilerin antioksidan enzimlerin hücresel seviyelerini düzenlemesi oldukça önemlidir (Gecheva *et al.* 2002; Minibaeva and Gordon 2003; Mutlu *et al.* 2009a). Bu ilişki

bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkar. Oksidatif stres, biyotik ve abiyotik stres koşullarında ortaya çıkan temel bir faktördür ve reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma arasında belirgin bir dengesizlik olduğu zaman meydana gelir (Foyer and Noctor 2000). Bitkilerde oksidatif strese cevap mekanizmaları tuzluluk (Fadzilla *et al.* 1997; Abogadallah 2010), düşük sıcaklık (Taşgın *et al.* 2003), yüksek sıcaklık (Davidson *et al.* 1996; Pereira *et al.* 2003), kuraklık (Bartoli *et al.* 1999) ve ağır metal (Schützendübel and Polle 2002) streslerinde iyi derecede çalışılmıştır. Yukarıda ifade edildiği gibi oksidatif stresin yatıştırılmasında rol alan en önemli aktörler antioksidan sistem elamanlarıdır. Aşağıda antioksidan enzimlerle ilgili bilgiler verilecek ve stres şartlarındaki rollerinden kısaca bahsedilecektir.

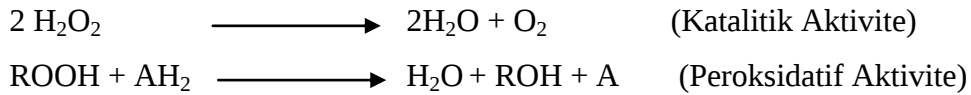
Süperoksid dismutaz (SOD) oksidatif strese karşı ilk savunma hattı olarak adlandırılan reaksiyonu katalizler (Guemouri *et al.* 1991). SOD, süperoksit radikalini ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene çevirebilen bir metaloenzimdir (Minibaeva and Gordon 2003; Roach 2009).



Aktif bölgesindeki metal kofaktörlere göre adlandırılan SOD'un bitki hücrelerinde; plastitlerde bulunan Fe-SOD (Miller 2001), mitokondri ve peroksizomlarda bulunan Mn-SOD (Hernandez *et al.* 1995; Candas and Li 2014), ve kloroplast, sitoplâzma ve extrasellüler alanlarda bulunan Cu/ZnSOD (Marikovsky *et al.* 2003; Badawi *et al.* 2004; Fonseca *et al.* 2013) olmak üzere 3 izoformu belirlenmiştir (Tanaka *et al.* 1999; Ali and Alqurainy 2006; Gharari *et al.* 2014). Birçok çevresel ve biyotik streslerde hücrel SOD miktarının üretiminde artış olduğu belirlenmiştir (Hernandez *et al.* 1995; Minibaeva and Gordon 2003). SOD aktivitesinin stres koşullarında arttığını veya azaldığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır. Bu sebeple SOD'un streslere veya ortamdaki ROT seviyelerine göre düzenleyici bir rol üstlendiği ileri sürülmüştür.

Antioksidan enzimlerden bir diğeri **katalazdır (CAT)**. Bu enzim yüksek konsantrasyondaki H_2O_2 'nin 2 elektronunu kullanarak su ve oksijene indirgenmesini

katalizleyen demir porfirin içeren tetramerik ve yüksek molekül ağırlığına sahip bir enzimdir (Mcclung 1997; Frugoli *et al.* 1998; Chaudiere and Iliou 1999). Aynı zamanda CAT, düşük H_2O_2 seviyelerinde alkoller, askorbat ve fenol içeren indirgenmiş substratları kullanarak peroksidatif aktivite gösterebilir (Chaudiere and Iliou 1999). Tüm enzimler içinde en hızlı dönüşüm sağlayanlardan birisi olan CAT'ın bir molekülü bir dakikada yaklaşık 6 milyon molekül H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye çevirebilir (Gill and Tuteja 2010). Pek çok bitki hücresinde enzimin büyük bir kısmı, H_2O_2 'nin yüksek olduğu peroksizomlarda bulunur. Bitki hücrelerinde glioksizom ve mitokondri içerisinde de bulunurken kloroplastlarda bulunmaz (Ali and Alqurainy 2006). CAT'ın bitki dokusunda H_2O_2 'nin uzaklaştırılmasında önemli rolü oynadığı belirtilmiştir (Steel and Greer 2005). Ayrıca, moleküler O_2 mevcudiyetinde metabolizmanın bazı kademelerinde üretilen H_2O_2 'nin ve ROOH gibi bir peroksin radikalliğini gidererek özellikle membranlarda oluşabilecek geri dönüşümsüz hasarları engellemektedir. Tuz stresi, sıcaklık ve soğuk stresi gibi çevresel streslerde aktivitesinin düştüğüne ait raporlar vardır (Ali and Alqurainy 2006; Neto *et al.* 2006). Aşağıda CAT'ın genel katalitik reaksiyonları verilmiştir.



Antioksidan enzimlerden bir diğeri **guaiakol peroksidaz (POX)** enzimidir. POX, H_2O_2 'yi kullanarak fenoller ve hidrokinonlar gibi çok sayıda aromatik bileşenlerin dehidrojenasyonunu katalizleyen ve *HEM* prostetik grubuna sahip bir proteindir (Banci 1997; Kim *et al.* 2000). POX'ların spesifik aktivite, substrat ilgisi, kofaktörler, inhibitörlere hassasiyet ve optimum pH gibi biyokimyasal özellikleri farklı olan çok sayıda izoenzimleri belirlenmiştir (Banci 1997). Düşük sıcaklık, tuzluluk, parazit enfeksiyonu, patojenler, UV-ışık tesirleri gibi çeşitli stres faktörlerinden yüksek seviyede etkilenen POX aktivitesi, bu enzimin stres enzimi olarak anılmasına sebep olmuştur (Lee and Lin 1996; Kim *et al.* 2000; Saroop *et al.* 2002). Bitkisel POX; yapraklar, yaralanan gövdeler, kotiledon yapraklar ile çiçek saplarında bulunmuş ve bu doku hücrelerinin nukleus, mitokondri, ribozom, hücre membranları ve apoplastında

lokalize olabildiği belirlenmiştir (Hamed *et al.* 1998; Kim *et al.* 2000; Taşgın *et al.* 2006; Mutlu *et al.* 2009a). POX enziminin çok sayıda fizyolojik olayda rol oynadığı ve birçok metabolik olayın gerçekleşmesine yardımcı olduğu açıktır. Bu yüzden çok sayıda işlevler ile bağdaştırılan POX enzimi ile ilgili araştırmalar yoğun bir şekilde sürdürülmektedir.

Askorbat peroksidazlar (APX) indirgeyici olarak iki molekül askorbatı kullanarak H_2O_2 'yi detoksifiye eden enzimlerdir (Noctor and Foyer 1998). Hücre içerisinde kloroplast stromasında, tilakoit zarında, sitozolde, glioksizom zarında ve mitokondride bulunurlar (Bunkelmann and Trelease 1996; Caverzan *et al.* 2012). Askorbat peroksidazlar en yaygın çalışılan guaiakol peroksidazlara büyük oranda benzerlik göstermesine rağmen, H^+ vericisi olarak askorbata olan yüksek ilgileri nedeniyle onlardan ayrılırlar. (Nakano and Asada 1987; Ranieri *et al.* 2001). Beş çeşit izoformu olan APX'in izoformları elektron verici olarak askorbata gerek duyduklarından, askorbat yokluğunda oldukça fazla kararsızdırlar (Miyake and Asada 1996). Sitoplâzmada bulunan askorbat peroksidazlar, kloroplastakine benzemekle birlikte askorbat bulunmadığı zaman daha fazla kararlı olup başka elektron vericilerini de kullanabilir (Vanacker *et al.* 1998). Tuz stresi uygulanan tütün bitkisi kloroplastında APX seviyesinin arttığı rapor edilmiştir (Badavi *et al.* 2004).

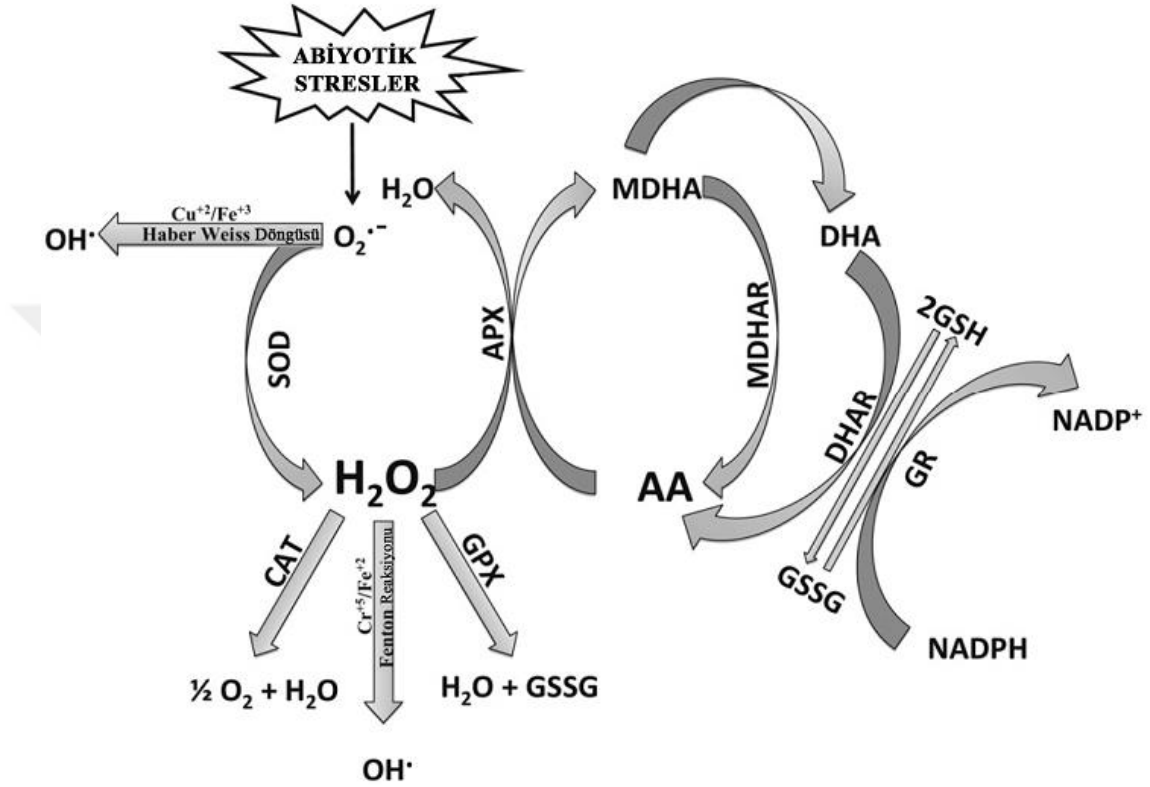
Askorbat–glutasyon döngüsünün bir diğer önemli enzimi de **glutasyon redüktaz (GR)**'dir. Canlıların glutasyon deposu kısıtlı olması nedeniyle okside glutasyonun (GSSG) redükte glutatona (GSH) dönüştürülmesi gerekmektedir. Bu işlem için ortamda NADPH'nin bulunması gerekir (Mir *et al.* 2015). Strese giren bitkilerde savunma enzimlerinden olan glutasyon redüktazın aktivitesinin arttığı rapor edilmiştir (Bartoli *et al.* 1999; Ali and Fattah 2006). Glutasyonun indirgenmiş halde kalması başta glutasyon peroksidaz (GPX) ve katalaz olmak üzere birçok antioksidan enzim aktivitesi için oldukça önemlidir. Katalaz azalması halinde glutatona bağımlı enzimler aktif hale geçerler. Ayrıca selenyum miktarındaki düşüş GPX ve GR düzeylerinde de azalmaya neden olur (Anonim 2012).

Enzimatik olmayan antoksidantların başında yer alan **glutasyon (GSH)** bitki dokularında bol miktarda bulunur. Serbest radikalleri metabolize ederler (Meneguzzo *et al.* 1999). Savunma sisteminde etkin görev alan askorbat-glutasyon döngüsünde askorbik asidin yeniden oluşumunu gerçekleştirerek savunma sisteminde kilit rol oynar. APX askorbatı substrat olarak kullanırken, H_2O_2 'yi detoksifiye eder (Hoque *et al.* 2007). Ayrıca glutasyon-S transferazın (GST) substratlığını yaparak hücrede meydana gelen zararlı bileşiklerin temizliğinde görev alır. Apoplast başta olmak üzere kloroplast, mitokondri, koful ve peroksizom gibi birçok farklı hücre kısımlarında bulunurlar (Hung *et al.* 2005). Hücrelerdeki glutasyon/okside glutasyon (GSH/GSSG) oranı hücrede meydana gelen oksidatif stres şiddetini belirler. GSH sentezinde oldukça önemli olan sistein amino asidi aynı zamanda sentez için hız belirleyici bir enzimi de onarır (Özel ve Birdane 2014).

Suda çözünebilir bir antioksidan olan **askorbik asit (Vitamin C - AsA)** doğada bol miktarda bulunur. Yapı itibarıyla bir şeker asididir. Bileşiklere kolaylıkla H vererek dehidroaskorbata (DHA) oksitlenebilir. Bu nedenle metabolizmada güçlü bir antioksidan olarak kabul edilir. Süperoksiti, tekli oksijeni ve hidroksil radikalini direkt olarak baskılayıp onlarla kolaylıkla reaksiyona giren AsA aynı zamanda H_2O_2 'yi de APX yoluyla suya dönüştürür (Ali and Alqurainy 2006). Askorbik asit sadece bir antioksidan değil aynı zamanda kompleks bir defans mekanizmasının da aktörlerindendir (Conklin and Barth 2004). Tuz stresine maruz kalmış birçok bitkide iyileştirici olarak rol almaktadır (Khan *et al.* 2011; Agami 2014). Eksojen olarak askorbik asit uygulanan bitkilerde, tuz stresinin neden olduğu ürün kaybı ve bitki büyümesindeki azalışın engellendiği rapor edilmiştir (Azzedine *et al.* 2011; Ejaz *et al.* 2012).

Bir strese cevapta antioksidan enzimlerin aktiviteleri ve antioksidan bileşiklerin miktarları bitki türünde ve hatta aynı türün farklı varyeteleri arasında bile değişiklik sergileyebilmektedir (Bor *et al.* 2003). Bu nedenle, stres koşullarında antioksidatif mekanizmanın bitki türüne, stres çeşidine ve bitkinin büyüme evresine göre değerlendirilmesi önerilmiştir (Bartoli *et al.* 1999). Şekil 1.1'de antioksidan enzimler ile

ROT bileşikleri arasında ilişkiyi tanımlayan bazı mekanizmalar ileri sürülmüştür (Asada 2006; Koca *et al.* 2007; Gill and Tuteja 2010; Sofo *et al.* 2015).



Şekil 1.1. ROT oluşumu ve ortadan kaldırılmalarını özetleyen şema

*SOD (Süperoksit dismutaz), APX (Askorbat peroksidaz), GSH (Glutasyon), GSSG (Okside glutasyon), GPX (Glutasyon peroksidaz), DHAR (Dehidro askorbat redüktaz), AA (Askorbik asit), MDHA (Monodehidro askorbat), MDHAR (Monodehidro askorbat redüktaz), DHA (Dehidroaskorbat) (Gill and Tuteja 2010)

Stres şartları altındaki bitkilerde ozmotik strese fizyolojik bir yanıt olarak biriken ozmolitlerin başında **prolin** gelmektedir (Matysik *et al.* 2002). Tüm bitkilerde prolin birikimi gözlenmemekle birlikte eğer birikim varsa genel olarak stresten etkilenildiği ifade edilebilir. Çeşitli streslere maruz kalan bitkilerde stres metabolitleri içerisinde en fazla prolin birikmesi, prolini bir stres indikatörü olarak adlandırmaya sebep olmuştur (Chen *et al.* 2003). Tuz stresine bir cevap olarak ozmotik denge ayarlamak amacıyla kofullarda Na^+ ve Cl^- , sitozolde ise büyük miktarlarda prolin biriktiren halofitler rapor edilmiştir (Yazıcı *et al.* 2007; Türkan and Demiral 2009). Stres şartlarının ortadan

kalkması durumunda da prolin parçalanarak enerji, karbon ve azot kaynağı olarak kullanılır (Hare *et al.* 1998).

Diğer canlılarda olduğu gibi bitkiler için de en önemli elementlerin başında gelen azot (N), bitkiler tarafından topraktan NO_3^- ve NH_4^+ formlarında alınır. Azot kaynağı olarak kullanılan NO_3^- eksikliğinde bitki büyümesi sınırlanır (Meloni *et al.* 2004). Ancak alınan NO_3^- 'ün bitki tarafından asimile edilmesi için NH_4^+ 'e indirgenmesi gerekir (Barro *et al.* 1991). Yüksek bitkilerin sitoplâzmasında bulunan **nitrat redüktaz (NR)** NO_3^- 'ün indirgenmesinde görev alan kilit bir enzimdir (Nakagawa *et al.* 1984; Viegas *et al.* 1999). Bu olayda elektron verici olarak NADH veya NADPH kullanılır (Barro *et al.* 1991; Faustino *et al.* 2000; Lea *et al.* 2004; Zhao *et al.* 2009).



Sitozolda meydana gelen bu olay neticesinde oluşan nitrit yapraklarda kloroplastlara, köklerde ise plastitlere taşınır ve taşındıkları yerlerde Nitrit Redüktaz (NiR) ile NH_4^+ 'a dönüştürülürler (Barro *et al.* 1991). Yapraklarda bulunan NR ışıқта aktive olurken, karanlıkta ve stomalar kapalıyken ise hızla inaktive olmaktadır (Ali *et al.* 2007). Köklerde ise NR aktivasyonu oksijen durumuna bağlı olarak değişmektedir (Abdelbaki *et al.* 2000). NR aktivitesinin ve nitrat alımının tuz stresi altında azaldığını gösteren bazı çalışmalar mevcuttur (Gouia *et al.* 1994; Silveira *et al.* 1999). Bu durumda tuz stresi esnasında enzimin aktivitesinin düzenlenmesi, tuz stresi hasarının azaltılmasında önemlidir. NR, substratı tarafından uyarılabilen bir enzim olması nedeniyle, aktivitesindeki değişim bitkinin dış ortamındaki nitrat varlığını ortaya koyabilir (Arslan vd 2009). İndirgenme reaksiyonlarının ilk kademesini düzenlemesi nedeniyle yüksek bitkilerin azot beslenmesinde kilit rol oynadığı kabul edilir ve bu enzimin aktivitesi ekolojik çalışmada nitrat varlığı indikatörü olarak kabul edilmektedir (Gebauer *et al.* 1988; Lodhi and Ruess 1988). Bitkilerin nitrat özümleme yetenekleri ve nitrat redüktazın karakteristikleri hakkındaki çalışmalar genellikle laboratuvar ortamı gibi kontrollü şartlarda yetiştirilen bitkiler ile yapılmakta olup, doğal ekosistemlerdeki bitkilerin nitrat özümlemesi hakkındaki çalışmalar kısıtlıdır.

Son yıllarda bitkilerin hem biyotik, hem de abiyotik streslere toleranslarında ortak yaşadıkları canlılarında önemli bir katkısı olduğu belirlenmiştir. Özellikle bakterilerin bu katkıda büyük rollerinin olduğu bilinmektedir. Hemen her koşulda bitkilerle simbiyotik yaşayabilen bakteriler, bitkinin strese aklımasyonunu veya toleransını artırabilmektedirler. Doğada yaşayabilmeleri için yüksek tuz ortamına ihtiyaç duyan, tuz toksitesini tolere edebilen veya tuza karşı yüksek adaptasyonlara sahip bakterilere **“halofilik veya halotolerant bakteriler”** denir (Shivanad ve Mugeraya 2011). Bunların tuza adaptasyon mekanizmaları değişmekle birlikte, genelde hücre içi/dışı iyon (Na/K) dengesini sağlayarak içsel homeostasiyi dengeleyen ve tuzun toksik etkisini azaltan hücre içi/dışı osmotiklerin sentezini sağlayarak tuzlu koşullara adapte olurlar (Shivanad ve Mugeraya 2011). Halofil bakterileri tuza karşı verdikleri cevaba göre Çizelge 1.2.’deki gibi gruplara ayırmak mümkündür (Ventosa 2006).

Çizelge 1.2. Halofil bakterileri tuza karşı verdikleri cevaplar

ORTAMDAKİ TUZ MİKTARI (M)	HALOFİLİK DURUMU
0.2 <	Halofil olmayan (Halotolerant olabilir)
0.2 (%1.2) – 0.5 (%3)	Zayıf halofiller
0.5 (%3) – 2.5 (%15)	İlımlı halofiller
2.5 (%15) – 5.2 (%30)	Extrem halofiller

Halofil bakteriler içerisinde önemli bir grup bitkilerin kök rizosferinde, kök rizoplantında, fillosferde veya bitki dokuları içerisinde (histoplan) endofitik olarak yaşamaktadırlar (Afrasayab and Hasnain 2001; Siddikee *et al.* 2010). Halofil rizobakteriler de denen bu bakterilerin büyük bir çoğunluğu bitki büyümesini artırarak önemli faydalar sağlar. Bunlar bitki gelişimini doğrudan veya dolaylı olarak artırdıkları için “bitki gelişimini teşvik eden bakteriler” (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* veya PGPR) grubu içerisinde değerlendirilirler (Yang *et al.* 2009; Siddikee *et al.* 2010). PGPR’ler, azot fiksasyonu, bitkisel hormon üretimi, bakteriyel siderofor üretimiyle demir ve benzeri elementlerin alınımını sağlama, fosfat çözme, bitki patojenlerini baskılama gibi etkilerle bitki gelişimini teşvik etmektedirler (Çakmakçı 2009;

Shivanand and Mugeraya 2011). Özellikle önemli kültür bitkileriyle yapılan çalışmalarda bitki gelişim ve verimi üzerine artırıcı etkileri ortaya konulmuştur. Yapılan birçok çalışmada sorgum, nohut, mısır, buğday ve pirinç bitkilerinde PGPR'lerin tuzlu koşullarda bitki büyümesine olumlu etkiler yaptığı belirlenmiştir (Jacoud *et al.* 1998; Sarig *et al.* 1998; Alam *et al.* 2001; Hamaoui *et al.* 2001; Saubidet *et al.* 2002). Bunlara ilave olarak halofil PGPR'lerin önemli bir kısmının, tuzlu topraklara adapte olmuş halofitik bitkilerin kök rizosfer/rizoplanında simbiyotik yaşayarak bitkiye önemli kazanımlar sağladıkları gösterilmiştir (Yang *et al.* 2009; Bal *et al.* 2013; Akhgar 2014). Bitki büyüme ve gelişmesini artırmanın yanında toprağın sağlıklı kalmasına katkı yaptıkları rapor edilmiştir. PGPR'lerin son yıllarda zirai alanlarda biyo-gübre olarak kullanılmaya başlandığı görülmektedir (Burelle *et al.* 2002; Ekinci *et al.* 2014). Günümüzde sentetik gübrelerin ve kimyasalların; toprak, bitki, çevre ve hatta insan sağlığında önemli sorunlara sebep olduğu bilinmektedir. Buna karşılık PGPR'li biyogübrelerin bu sorunları azaltacağı ve doğal çevrelerin korunmasına önemli katkı yapacağı ileri sürülmüştür (Mayak *et al.* 2004; Yang *et al.* 2009; Siddikee *et al.* 2010). PGPR'lerin bitki gelişimini desteklemenin yanı sıra, abiyotik stres faktörlerinden tuz stresine karşı bitkiyi koruyabildikleri ve tuza bilinen mekanizmaların yanında farklı yollarla da tuza adaptasyonu artırdıkları çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (Mayak *et al.* 2004; Chang 2007; Zahir *et al.* 2009; Plett and Moller 2010; Siddikee *et al.* 2010). Örneğin bu mekanizmalardan en önemlilerinden esnasında aşırı üretilen etileni parçalayıcı enzim içermeleridir (Glick *et al.* 2007; Zahir *et al.* 2009).

Tuz stresi dâhil çevresel streslerin hemen hepsinde bitkilerde Etilen hormonu sentezinde belirgin bir artış gözlenir (özellikle köklerde) ve yüksek etilen bitkide büyüme ve gelişmeyi inhibe eder. Bitkide etilen sentezinde en önemli ara ürün aminosiklopropan karboksilik asittir (ACC). Bitki dokularında ACC, Etilen Sentaz enziminin katalitik etkisiyle Etilene dönüştürülür. ACC'nin parçalanması Etilen sentezinin inhibe olmasını sağlar ve dolayısıyla da Etilenin bazı olumsuz etkilerinin yatıştırılması sağlanır (Mayak *et al.* 2004; Glick *et al.* 2007; Zahir *et al.* 2009). PGPR'lerin birçoğu içerdikleri ACC deaminaz enzimiyle bitkiler tarafından üretilen Etilen öncülü ACC'yi parçalayarak Etilen oluşumunu engelledikleri ve böylece stres şartları altında bitki büyümesini

artırabildikleri ileri sürülmüştür (Mayak *et al.* 2004; Glick *et al.* 2007; Zahir *et al.* 2009). *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) tohumlarıyla yapılan bir çalışmada ACC deaminaz aktivitesine sahip PGPR'ler ile inoküle edilmiş tohumlarda fidelerin kök gelişiminin iyileştiği görülmüştür (Contesto *et al.* 2008). Benzer şekilde domatesde (Mayak *et al.* 2004; Ji *et al.* 2006), tek yıllık karaçayır bitkisi ile yulafta (Xiu ve Dong 2007), nohutta (Shahzad *et al.* 2010) ve mısırdaki (Shahzad *et al.* 2013) ACC deaminaz aktivitesine sahip PGPR'lerin bitki gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Yine tuzlu koşullar altında buğday (Zahir *et al.* 2009) ve kanola bitkisinde (Bertrand 2001; Siddikee *et al.* 2010) ACC deaminaz içeren bakterilerle yapılmış çalışmalarda tuz toleransının arttığı rapor edilmiştir. Diğer taraftan PGPR inokule edilmiş bitkilerde antioksidan sistemin uyarılabildiği ve bunun stres koşullarına direnç artışında önemli katkısı olduğu belirlenmiştir (Jha ve Subramanian 2014). Yapılan çalışmalarda PGPR bakterilerinin etkisiyle bitki dokularında antioksidan sistemin etkin bir şekilde uyarılması stres toleransını artıran en önemli enstrümanlardan birisi olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, PGPR bakterilerinin kültür bitkilerine inokulasyonu yoluyla stres etkisini hafifletme çalışmaları giderek artmaktadır (Fages and Arsac 1991; Çakmakçı *et al.* 1999; Hamaoui *et al.* 2001; Adesemoye *et al.* 2008).

Günümüzde gerek geleneksel ıslah metotlarıyla gerekse biyoteknolojik metotlarla geliştirilen kalite ve verimi yüksek kültür bitkilerine ait çeşitlerde tuz stresi duyarlılığı yüksektir. Bu yüzden kültür bitkilerinin tuz stresi toleranslarını artırıcı ve destekleyici çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmada bitki materyali olarak mısır (*Zea mays* L.) tercih edilmiştir. Fizyolojik olarak bir C4 bitkisi olan mısır aynı zamanda bitki biyolojisi için model organizmalar arasındadır. Mısır dünyada buğday ve pirinç üretiminden sonra üçüncü sırada yetiştiriciliği yapılan önemli bir kültür bitkisidir. Tuza karşı genelde duyarlı bitkiler grubunda yer alır ve bu nedenle sulama suyunun elektriksel iletkenliği (EC) 3.9 dS/m'ye ulaştığında verimde yaklaşık %50 oranında azalma görülebilir (Ayers ve Westcot 1976). Mısırın tuz stresi cevap mekanizmaları konusunda literatürde çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda tuz stresine maruz kalan mısırdaki çimlenmede inhibisyon, antioksidan enzimlerin aktivitesinde düşme, ROT seviyelerinde artış, fotosentetik verimde azalma, tane verimi

ve nispi su içeriğinde düşme, taze ve kuru ağırlıklarda azalma ve içsel Na oranında artma belirlenmiştir (Szalai *et al.* 2005; Neto *et al.* 2006; Radic *et al.* 2007; İsmail 2013). Bu nedenle mısır tarımı yapılacak toprakların EC değerinin takibi önem arz etmektedir. PGPR uygulamasıyla mısırın büyüme ve gelişmesinin artırılması ile ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır (Biari *et al.* 2008; Sharifi and Khavazi 2011; Noumavo *et al.* 2013; Ulah *et al.* 2013). Ancak yabancı halofit bitkilerden izole edilen halofil PGPR bakterileriyle yapılmış çalışmalar literatürde oldukça az sayıda bulunmaktradır (Siddikee *et al.* 2010). Yabancı halofitlerden izole edilen PGPR bakterilerinin yüksek tuza toleranslı olmaları nedeniyle çalışmalarda kullanılmaları iyi bir avantaj olarak değerlendirilmektedir. Literatürde PGPR olduğu tescillenmiş bakterilerin stres şartlarında bitki büyümesi üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Hamaoui *et al.* 2001; Adesemoye *et al.* 2008; Kohler *et al.* 2009; Heidari and Golpayegani 2012). Sınırlı sayıdaki çalışmada, halofitik bitkilerden izole edilen halofilik PGPR bakterilerinin bazı bitkilerde tuz stresi toleransını artırabildikleri gösterilmiştir (Siddikee *et al.* 2010). Türkiye’de ise şu ana kadar halofil olmayan genel PGPR bakterileriyle 53 makale (Web of Science kayıtlarına göre) ve 11 tez (YÖK tez kayıtlarına göre) yapılmıştır. Bu makaleler içerisinde bazıları ticari tescilli PGPR bakterilerinin bitkilerin stres koşullarına adaptasyonu üzerine etkileri ile alakalıdır. Yapılan tezlerden sadece 3 tanesinde tescillenmiş ticari PGPR’lerin stres altındaki bitkiler üzerine etkileri çalışılmıştır. Ülkemizde bu konuda bazı özgün çalışmaların yapılmış olduğu görülse de konunun öneminden ötürü sayının yeterli olmadığı ve daha çok çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yapılan bu çalışmaların hiç birinde yabancı halofitik bitkilerden halofilik bakteri izolasyonu yapılmamış ve dahası bir kültür bitkisine inokule edilerek bitkide stres cevabının biyokimyasal ve fizyolojik mekanizmaları çalışılmamıştır. Ülkemizin bu anlamda zengin halofitik bitki kaynaklarına sahip olduğu göz önüne alındığında, özellikle Tuz Gölü gibi çok sayıda endemik veya endemik olmayan halofitlerin bulunduğu bir havzanın oldukça özel bir yeri olduğu düşünülmüştür. Bu nedenle çalışmamızda Tuz Gölü halofitleri tercih edilmiştir.

Tuz Gölü Türkiye'nin en büyük gölleri arasındadır. Göl, sığ olup (en fazla 1.5 m) tuz oranı mevsimlere göre değişse de oldukça yüksektir (Adıgüzel vd 2005). Tuzcul bozkır ekosistemden oluşan Tuz Gölü havzası, zengin biyoçeşitliliği ile önemli sayıda endemik veya endemik olmayan halofit bitki türlerini barındıran eşsiz bir yerdir (Adıgüzel vd 2005). Tuz Gölü havzasında tuz oranının yüksek olduğu alanlarda sadece halofitik bitkiler bulunur. Yüksek tuz oranı nedeniyle halofitik bitkiler dışındaki bitki türleri bu alanlarda yaşam varlığı gösteremezler. Halofitler tuzlu ortamlara adapte olmuş ve diğer bitki türlerinin %99'unu öldüren tuz konsantrasyonlarına dayanabilen bitkilerdir (Khan and Ungar 1998; Flowers and Colmer 2008). Tuz Gölü havzasında büyük bir kısmı endemik olan halofitik bitkilerin, Ülkemiz gen kaynağı açısından oldukça önemli olduğu bilinmektedir (Adıgüzel vd 2005). Ülkemizde Tuz Gölü halofitleriyle ilgili bazı sistematik veya ekofizyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kaçında Tuz Gölü halofitlerinin ekofizyolojileri çalışılarak tuz stresine cevap mekanizmaları belirlenmiştir (Tıprıdamaz vd 2010; Furtana *et al.* 2013). Yapılan bir doktora tezinde, Tuz Gölü çevresinde farklı familyalara ait 30 halofitik bitkinin (26'sı dikotil, 4'ü monokotil) tuza cevap mekanizmaları çalışılmıştır (Furtana 2010). Bu çalışmada fotosentetik pigmentler ve inorganik-organik bileşiklerin seviyelerindeki değişimler, familyalar ile türler arasında mevsimsel olarak incelenmiş ve bunların ilişkileri toprağın fiziksel parametreleri ile değerlendirilmiştir (Furtana 2010; Furtana *et al.* 2013). Çalışmada toprakların alındığı istasyonların toprak özelliğine bağlı olarak taksonlar arasında inorganik ve organik iyon miktarı bakımından farklılıklar olduğu da görülmüştür (Furtana 2010). Yapılan literatür incelemesinde, Tuz Gölü halofitlerinin (endemik veya değil) rizosferlerinde yaşayan halofilik bakterilerin kültür bitkilerinde tuz toleransı üzerindeki rolünü değerlendiren herhangi bir çalışma belirlenememiştir. Kanaatimizce bu önemli bir literatür boşluğudur ve bu alanda yapılacak çalışmalar bilime ve Ülkemize önemli kazanımlar sağlayacaktır.

Bu çalışmada, yukarıdaki bilgilere dayanarak, Tuz Gölü havzasında yaşayan halofitik bitkilerin köklerinden izole edilecek halofilik bakterilerin tuz stresine duyarlı kültür bitkilerinde tuz toleransını artırabileceği hipotezi ileri sürülmüştür. Bu hipotez çerçevesinde çalışmamızda, Tuz Gölü havzasındaki bazı halofitik bitkilerin rizosferinde

halofilik bakterilerin izolasyonunun yapılması ve bu bakterilerin mısırın tuz stresi toleransını artırma potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç için öncelikle Tuz Gölü halofitik bitkilerin bazılarının rizosferinden halofilik bakteriler izole edilmiştir. İzole edilen bakterilerin 16S rRNA dizi analizlerine göre identifikasyonları yapılmış ve sonra ACC deaminaz enzim aktiviteleri ve azot fiksasyon yetenekleri belirlenmiştir. Daha sonra bu bakteriler mısır tohumlarına (saksı deneyleri aşaması için) inokule edilmiştir. İnokule edilmiş ve edilmemiş (kontrol) bitkiler belirli derecelerde (0, 75, 150, 250 mM) tuz (NaCl) stresine maruz bırakıldıktan sonra, bitki köklerinde ve yapraklarında bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler belirlenmiştir. Bunlar arasında öncelikle kuru ağırlık, taze ağırlık, klorofil miktarı, canlılık testi (iyon sızıntı testi) ve lipid peroksidasyon seviyesi deneyleri yapılarak bakteri izolatları içinde tuz toleransına olumlu etki yapanlar seçilmiştir. Seçilen bu izolatların hangi mekanizmaları harekete geçirerek etkili olduğunu belirlemek için bitkilerimizde element miktarları (Na^+ , K^+ , Ca^{+2}), antioksidan sistem parametreleri (ROT seviyeleri ve antioksidan - enzimatik/nonenzimatik- aktiviteleri) değerlendirilmiştir. Çalışmada, elde edilen tüm veriler karşılaştırmalı olarak değerlendirilerek mısırın tuzlu koşullarda gelişimine katkı sağlayabilecek potansiyel PGPR bakterileri belirlenmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Literatürlerde abiyotik stres faktörlerinden tuz stresinin bitki gelişimi üzerine olumsuz etkileri hakkında birçok araştırma mevcuttur (Sivritepe 2001; Özdiş 2005; Güneş vd 2006). Özellikle tuz stresinin bitkide meydana getirdiği metabolik bozukluklar, fizyolojik hasarlar ve ürün kaybı ile alakalı deneysel veriler birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Çolak vd 2008; Kacar vd 2009; Jha *et al.* 2011). Bitki, tuz stresi sonrası oluşan reaktif oksijen türlerini baskılamak veya meydana gelen hasarı bertaraf etmek için antioksidan (enzimatik/nonenzimatik) bileşikler ile ozmoprotektan maddeleri üreterek kendini korumaya çalışır. Düşük stres değerlerinde koruma başarılı olsa da stresin şiddeti arttıkça bu pek mümkün olamamaktadır. Strese karşı bitkinin kendi içsel mekanizmalarının yanı sıra simbiyotik ilişki kurduğu mikroorganizmaların özellikle de bakterilerin stres hasarının azaltılmasına önemli katkı yaptıkları belirlenmiştir (Sarig *et al.* 1998; Alam *et al.* 2001; Saubidet *et al.* 2002). Bitki Büyümesini Teşvik Eden Rizobakteriler (PGPR) adı verilen bakterilerle stres hasarının yatıştırılmasına dair birçok araştırma mevcuttur (Mayak *et al.* 2004; Chang 2007; Zahir *et al.* 2009; Plett and Moller 2010; Siddikee *et al.* 2010). Bu çalışmada ise Tuz Gölü gibi extrem tuzlu koşullarda yaşamaya adapte olmuş halofit bitkilerin köklerinden PGPR potansiyeli olan bakteriler izole edilerek mısırın tuz stresi toleransının artırılması için çalışmalar yapılmıştır. Aşağıda öncelikle tuz stresinin bitkilerde oluşturduğu fizyolojik ve biyokimyasal hasarlar sonra tuz stresine cevap mekanizmaları ile ilgili çalışmaların sonuçları özetlenmiştir. Daha sonra tuz stresi toleransının artırılması için PGPR bakterileriyle yapılmış çalışmalardan elde edilen bilgiler sunulmuştur.

Sodyum ve potasyum tuzlarının hıyar (*Cucumis sativus* L.) fidelerinin gelişimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada saksı denemesi kurulmuş ve yapılan uygulamanın çimlenme oranı ve süresi, gerçek yaprak görünme süresi, hipokotil boyu, kotiledon boyu ve genişliği, kök ve sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ile sürgün ve kök ağırlıklarına etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak artan tuz konsantrasyonunun kök/gövde çıkışı ve fide gelişimine olumsuz etki yaptığı belirlenmiştir (Türkmen vd 2000).

Başka bir çalışmada, tuz uygulamasının mısır bitkisinde (*Zea mays* L. cv: RX 947) kök/gövde büyümesi ile mineral madde (Na, Cl, N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn ve Mn) konsantrasyonlarındaki değişim araştırılmıştır. Sera şartlarında gerçekleştirilen denemelerde bitki toprağına 0, 15, 30, 45 ve 60 mM kg⁻¹ oranlarında NaCl tuzu uygulanmıştır. Tuzluluğun mısır bitkisinin kök ve gövde büyümesini inhibe ettiği ve artan tuzla birlikte kök/gövde kuru ağırlığında düşüşler meydana geldiği bildirilmiştir. Ayrıca Na, Cl, Zn, Mn ve P miktarlarının kök ve gövdede arttığı görülmüştür. Tuz uygulamasının gövdede N, Ca ve Fe miktarlarını azalttığı, kökte ise N, Ca, Fe ve Mg miktarlarını artırdığı rapor edilmiştir (Taban and Katkat 2000).

Karagüzel (2003), Güney Anadolu'da doğal yetişen acı bakla (*Lupinus varius*) üzerinde NaCl, CaCl₂ ve KCl tuz kaynaklarının farklı konsantrasyonlarda (250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 ve 16000 mg.l⁻¹) uygulanmasıyla ilgili bir çalışma gerçekleştirmiştir. Araştırmasında çimlenme oranları, çimlenme enerjileri, ortalama çimlenme süreleri, çimlenme indeksleri gibi çimlenme özelliklerinin yanı sıra, sürgün ve kök uzunluk ile kuru ağırlık değerlerini ölçmüştür. Sonuçları değerlendirdiğinde 250, 500, 1000 mg.L⁻¹ tuz konsantrasyonlarında olumsuz bir etkileşim söz konusu değilken 2000 mg.L⁻¹ ve üstüne çıkıldığında ise çimlenme özelliklerinde çok önemli sınırlanmalar olduğunu bildirmiştir.

Eker *et al.* (2006), besin çözeltilisinde ve kontrollü şartlar altında 19 hibrit mısır çeşidinin (*Zea mays* L.) büyümenin erken evresinde tuz stresine toleransını araştırmışlardır. Bitkiler hasat edilmeden 6 gün önce 250 mM NaCl tuz uygulaması gerçekleştirilmiştir. Bitkiler 17 günlük yetiştirme periyotlarının ardından hasat edilerek gövde ve kök kuru madde miktarları, yaprak hasarlanma oranları ile kök ve gövde de Na, K ve Ca konsantrasyonları araştırılmıştır. Tuz uygulaması ile büyüme parametrelerindeki azalmada çeşitler arasında önemli varyasyonlar görülmüştür. Benzer şekilde kök ve gövdedeki iyon miktarları da çeşitler arasında farklılıklar göstermiştir. Meydana gelen stres sonucu gövde büyümesindeki azalma oranı kök büyümesindeki azalma miktarından daha fazla bulunmuştur. Sonuçlar değerlendirildiğinde çeşitlerdeki semptom şiddetindeki yüksek toleransla yeşil aksamdaki düşük Na içeriğinin ilişkili

olduğu bulunmuştur. Ölçülen iyonlar arasında yeşil aksamdaki Na konsantrasyonu çeşitlerin tuz toleransını belirlemede güvenilir bir parametre olabileceği rapor edilmiştir.

Radic *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, 6 farklı hibrit mısır (*Zea mays*) çeşidine (NS 300, NS 420, ZP 599, NS 640, ZP 680 ve ZP 704) 0.02, 0.07, 0.12, 0.17, 0.20 ve 0.22 M konsantrasyonlarda tuz stresi uygulanmıştır. İklim kabine yerleştirilmiş saksılar 7 gün sonra hasat edilmiştir. Artan tuz uygulaması ile tüm çeşitlerde çimlenmenin azaldığı, toprak üstü ve toprak altı aksam uzunluklarında da benzer şekilde azalışlar gösterdiği rapor edilmiştir.

Domates ve turpta, çimlenme ve fide büyümesinin ilk evrelerinde tuz stresinin etkilerini ortaya koymayı amaçlayan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda tuz uygulanmıştır. Fotoperyot şartlarında 5000 ppm tuz uygulamasında tohumların çimlenme yeteneklerini tamamen kaybettikleri gözlemlenirken, karanlık şartlarda 2000 ppm ve üstü tuzlarda daha toleranslı oldukları rapor edilmiştir. Düşük konsantrasyonlarda hipokotil gelişmesinde olumlu sonuçlar elde edilse de yüksek konsantrasyonlarda gelişimde inhibisyonlar meydana geldiği gözlenmiştir (Çolak vd 2008).

Çarpıcı *et al.* (2009), altı mısır çeşidinin (ADA-523, Bora, C-955, PR 3394, Progen 1150 ve Trebbia) çimlenmesinde tuzun etkisini araştırmıştır. Çimlenme aşamasında tohumlara farklı konsantrasyonlarda (0, 50, 100, 150, 200 ve 250 mM NaCl) tuz uygulamıştır. Çeşitler arasında tuza karşı verilen cevaplar farklı olmuştur. Artan tuz uygulamasıyla beraber tüm çeşitlerde çimlenme parametrelerinde ciddi düşüşler görülmüştür. En yüksek çimlenme yüzdesine ve çimlenme indeksine C-955 çeşidinde rastlanılmıştır. Kök ve gövde kuru ağırlığında tüm çeşitlerde düşüş sergilenmiştir. En az düşüşe Bora ve C-955 çeşitlerinde rastlanırken en fazla düşüş Progen-1550 çeşidinde görülmüştür. Tuz tolerans indeksi en yüksek olan ise yine C-955 olmuştur. Tüm bu sonuçlar üretici açısından C-955 çeşidinin tavsiye edilebilir olduğunu, en hassas çeşidin ise Progen-1550 olduğunu ortaya koymuştur.

Turan *et al.* (2010) tarafından tuz uygulaması sonrası mısır bitkisinin (*Zea mays* L. cv: RX 947) büyüme parametreleri ve iyon içeriğinin değerlendirildiği bir araştırma yapılmıştır. Beş farklı tuz konsantrasyonu (0, 25, 50, 75 ve 100 mM) uygulanmış ve bitkiler 6 hafta sonra hasat edilmiştir. Artan tuz şiddetiyle birlikte kök ve gövde uzunluğunda meydana gelen azalmaya paralel olarak benzer şekilde kuru ağırlıklarda da düşüş olmuştur. Uygulanan tuz, kök ve gövdede Na, P, Cl, Zn ve Mn konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur. Ayrıca N, Ca ve Fe miktarları gövdede azalırken kökte ise artış göstermiştir.

Çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzun etkisini belirlemek amacıyla 6 farklı tritikale (*Triticale* L.) çeşitlerine farklı tuz konsantrasyonları (3.9, 6.1, 8.3, 10.5, 14.9, 19.3, 25.0 dS/m) uygulanmıştır. Çeşitlerin artan tuza gösterdikleri tepkiler farklı olmakla birlikte, genel olarak çimlenme oranı, fide ve kök uzunluğu, fide ve kök kuru ağırlıkları ile bitki protein içeriklerinde kontrole göre önemli azalmalar belirlenmiştir (Kara vd 2011).

Tuz stresinin bitki kök ve gövde uzunluğuna olumsuz etki yaptığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Bezelye (Okçu *et al.* 2005), sorgum (Atış 2011), pirinç (Hakim *et al.* 2010; Ologundudu *et al.* 2014), mercimek (Kökten *et al.* 2010; Abazarian *et al.* 2011), buğday (Akbarimoghaddam *et al.* 2011) ve biber (Hassen *et al.* 2014) gibi kültür bitkileriyle yapılan çalışmalar, tuz stresinin bitki gelişim ve büyümesinde olumsuz yönde oldukça fazla etki ettiğini göstermişlerdir.

Altı ekmeklik buğday genotipiyle (Hirmand, Chamran, Hamoon, Bolani, Sorkhtokhm ve Kavir) yapılan bir çalışmada bitkilere beş farklı tuz konsantrasyonu (0, 2.5, 5, 7.5, 10 ve 12.5 dS/m) uygulanmıştır. Çeşitler arasında su alınımlı, çimlenme yüzdesi, kök ve gövde kuru ağırlığı ile uzunlukları ve Na⁺, K⁺ alım miktarları ölçülmüştür. Belirlenen tüm parametrelerde artan strese bağlı olarak periyodik bir düşüş gerçekleşmiştir. Artan tuz kök ve gövdede Na⁺ birikimini artırırken, K⁺ birikimini ise düşürmüştür. Hamoon, Bolani ve Sorkhtokhm çeşitlerinin tuza karşı diğerlerinden daha toleranslı oldukları bulunmuştur (Akbarimoghaddam *et al.* 2011).

Elkoca vd (2003)'nin fasulye ile yapmış oldukları çalışmada, artan tuz seviyesine paralel olarak çimlenme hızında düşüşler olduğu rapor edilmiştir. Benzer sonuçlar bazı araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Bhardwaj *et al.* 2010; Abazarian *et al.* 2011; Anbumalarmathi *et al.* 2013). Olagundudu *et al.* (2014), 8 pirinç varyetesi (*Oryza sativa* L.) ve 4 tuz konsantrasyonu (0, 5, 10 ve 15 dS/m) ile yapmış olduğu çalışmada tuz stresi arttıkça tüm çeşitlerde çimlenme oranı, çimlenme hızı, kök/gövde boy-taze ağırlık ve kuru ağırlıklarında düşüş olduğunu rapor etmişlerdir.

Abbasi *et al.* (2014), 2 hassas ve 2 toleranslı hibrit mısır çeşidi (*Zea mays* L.) ile hidroponik ortamda tuz stresinin etkilerini araştırmışlardır. Üç farklı tuz konsantrasyonu (0, 70, 140 mM) uyguladıkları denemeleri 4 hafta sürmüştür. Tuz stresinin, kök/gövde taze/kuru ağırlığı ile boyu, klorofil içeriği, yaprak alanı gibi büyüme parametrelerinde azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. 70 mM tuz uygulamasında CAT, SOD ve POX enzimlerinin aktivitelerinde artış gözlemlenirken 140 mM tuz uygulamasında ise enzim aktivitelerinde düşüşler meydana gelmiştir. Tuza hassas genotipler toleran olanlara nazaran tuzdan daha fazla etkilenmişlerdir. Bununla birlikte iyileştirici olarak potasyum uygulaması fotosentez kapasitesini, CAT enzim aktivitesini ve yapraklarda K⁺ birikimini artırmıştır.

Bitki yaşam döngüsü esnasında, metabolik faaliyetlerini devam ettirebilmek için oksijeni indirgemesi gerekir. Ancak oksijenin indirgenmesi esnasında Reaktif Oksijen Türleride (ROT) meydana gelebilmektedir. ROT oluşum hızı stres koşullarında daha fazla artar (Apel and Hird 2004; Ali and Alqurainy 2006). Meydana gelen bu zararlı bileşikler bertaraf etmek için bitki birtakım antioksidan bileşikler sentezler (Gill and Tuteja 2010; Jha *et al.* 2011).

H₂O₂ her ne kadar stres şartları altında meydana gelen bir oksidant olsa da düşük seviyelerde iyileştirici özelliğinin bulunduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Tuz stresine maruz kalmış pirinç (Uchida *et al.* 2002), buğday (Wahid *et al.* 2006), salatalık (Shi *et al.* 2007) ve mısır (Gondim *et al.* 2010; Gondim *et al.* 2013), bitkilerine dışarıdan eksojen olarak H₂O₂ uygulanmıştır. Uygulama da CAT, APX, POX, AsA gibi

antioksidan enzimlerin aktivitelerinde kontrollerine kıyasla önemli derecede artış meydana getirdiği belirlenmiştir.

Neto *et al.* (2005); tuza hassas bir mısır genotipini tuz stresine maruz bırakmış ve tuz uygulaması sonrası bitkilerin besin solüsyonuna 1 μM H_2O_2 ilave etmiştir. Sonuçta H_2O_2 uygulanan bitki gruplarında antioksidanların seviyelerinde artış gözlenirken lipid peroksidasyonunda ise düşüşler meydana gelmiştir.

Agarwal and Pandey (2004). *Cassia angustifolia* Vahl. tohumları 0, 20, 50 ve 100 mM NaCl tuz stresine maruz bırakılarak büyüme parametreleri, içsel Na^+ ve Cl^- konsantrasyonları, antioksidant sistem, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit ve prolin içeriği araştırılmıştır. Artan tuzun, bitki büyümesinde büyük düşüşe neden olduğu gibi incelenen parametrelerin tamamını etkilediği, özellikle 100 mM tuz uygulanan gruplar başta olmak üzere uygulamanın yapıldığı bütün bitkilerde çimlenme yüzdesinde ve biyokütlede önemli düşüşler meydana geldiği belirlenmiştir. Na^+ ve Cl^- konsantrasyonlarının artan tuzla beraber arttığı bildirilmiştir. Ayrıca düşük tuz uygulamalarında artan SOD aktivitesinin yüksek tuzda azalışa geçtiği tespit edilmiştir. SOD'dan farklı olarak CAT ve POX seviyelerinde ise artış gerçekleştiği rapor edilmiştir. Prolin içeriğine en düşük kontrol şartlarındaki bitkilerde rastlanırken, en yüksek ise 100 mM tuz uygulanmış gruplarda rastlanılmıştır. H_2O_2 seviyesinin ise artan tuzla beraber artış gösterdiği gözlenmiştir.

Szalai *et al.* (2005), 2 haftalık mısır bitkilerine yedi gün boyunca 50 ve 100 mM NaCl tuzu uygulamıştır. Hasat sonrası yapılan ölçümlerde CAT ve APX aktivitelerinde bir değişim olmazken, GR ve POX miktarlarında artış kaydetmişlerdir. Ayrıca içsel salisilik asit seviyesinde de herhangi bir değişim bulunmamıştır.

Yapılan başka bir çalışmada tuza hassas (BR 5011) ve tuza tolerant (BR 5033) iki farklı mısır genotipi 100 mM NaCl içeren ortamda yetiştirilmeye bırakılmıştır. Daha sonra kök ve gövde ayrı ayrı hasat edilerek antioksidan enzimlerinin seviyelerine bakılmıştır. Tuza tolerantlı bitkilerin enzim aktiviteleri hassas olan genotiptekilerden daha fazla bulunmuştur. CAT aktivitesi tuza hassas olanlarda azalış gösterirken, tolerant

genotiplerde önemli seviyede değişmemiştir. Tuza tolerant genotiplerin köklerinde CAT ve SOD aktivitesi düşerken APX, POX ve GR aktiviteleri ise kontrolleriyle benzer seviyeler göstermiştir. Hassas genotiplerin köklerinde ise tüm enzimlerin aktivitelerinde azalışlar meydana gelmiştir. Veriler CAT ve POX enzimlerinin hem kök hem de yapraklarda H_2O_2 'in parçalanmasında görev aldığını göstermiştir (Neto *et al.* 2006).

Rahnama and Ebrahizahed (2006), 4 çeşit patates kültürüne 0, 50, 100 ve 150 mM NaCl tuzu uygulamışlar ve tüm çeşitlerde artan tuz SOD aktivitesini azalttığını tespit etmişlerdir. Tuz stresi karşısında POX aktivitesi artsa da, yüksek tuz seviyelerinde aktivitede önemli düşüşler gerçekleştiği rapor edilmiştir.

Yaşar vd (2008), tuz stresinin yapraklardaki antioksidan enzim aktivitesinde meydana gelen değişimleri belirlemek amacıyla 2 tuza hassas, 2 tanede tuza tolerant karpuz bitkilerini 10 gün boyunca 100 mM NaCl stresine maruz bırakmışlardır. Tuza tolerant olan genotiplerde CAT, APX, GR ve SOD seviyelerinin hassas olan genotiplere göre daha fazla üretildiklerini tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçları; söz konusu enzimlerin tuz toleransı bakımından etkili oldukları ve tolerant çeşitlerin hassas çeşitlere göre bu enzimleri daha aktif halde kullandıkları şeklinde rapor etmişlerdir.

Mısır'da yerel iki bakla (*Vicia faba* L.) çeşidinde, 0 ve 140 mM NaCl tuz konsantrasyonuna karşı verecekleri cevabı hafifletmek için 0.2 mM salisilik asid kullanılmıştır. Tuza dayanıklı olan çeşidin antioksidan enzim aktiviteleri (CAT, POX, APX ve GR), karatenoidler ve osmotik solüsyon birikimleri duyarlı olana göre daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca iyon sızıntısı ve lipid peroksidasyon değerleride yine dayanıklı olan türde daha düşük çıkmıştır. SA uygulaması her iki genotipte de tuz stresinin inhibe edici etkisini hafifletmekle kalmamış, aynı zamanda kontrol bitkilerinde düşünülen daha fazla uyarıcı etkiye sebep olmuştur. Sonuçlar her iki genotipinde kendilerince farklı tuza adaptasyon mekanizmaları geliştirdiklerini göstermiştir. Ayrıca salisilik asidin faydalı etki göstererek tuza toleransta iyileştirici olarak kullanılabileceğini rapor edilmiştir (Azooz 2009).

Yakıt ve Tuna (2006), kalsiyum, potasyum ve magnezyumun tuz stresine maruz kalmış mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yapılan çalışma sonrası %EC değeri en düşük kontrolde çıkarken bu değer tuz uygulamasıyla birlikte 5 kat artış göstermiştir. Tuzla birlikte uygulanan Ca, K ve Mg uygulaması yatıştırıcı etki göstererek %EC değerini tuz uygulamasına göre düşürmüştür. Tuz uygulamasıyla birlikte prolin miktarında da artış meydana gelmiştir. Benzer şekilde klorofil ve karotenoid miktarı ile yapraklarda ve köklerdeki makroelementler (N, P, K, Ca, Mg, Na) tuz uygulamasıyla azalış göstermiştir. Ca, K ve Mg uygulaması ise bu azalışa karşı pozitif etki göstererek tuz uygulamasına göre artırmıştır. Kök ve gövde uzunlukları ile kuru ağırlıklarında da yine uygulanan mineraller tuz uygulamasına kıyasla iyileştirici etki göstermiştir.

Domates tohumlarının (*Lycopersicon esculentum* Mill.) kökleri 300 mM NaCl tuz stresine maruz bırakılmıştır. Tuza maruz kalan tohumlar hızlı bir şekilde solma belirtileri göstermeye başlamıştır. Daha sonra 6 saat, içerisinde tuz olmayan besin çözeltisine alınan tohumların, 9 saat sonra tamamının öldüğü görülmüştür. Öte yandan köklerin konulduğu besin çözeltisi içerisine 0.5 mM askorbik asit ilavesi solmak üzere olan tohumların %50'sinin tekrar yaşamasına imkan sağlamıştır. Tuz stresi kök, gövde ve yapraklarda aktif oksijen türlerinin artmasına neden olarak lipid peroksidasyonunu artırmıştır. Askorbik asit ilavesi ROT'ların meydana getirdiği hasarı azaltsa da sodyum alınımını önemli derecede azaltamamıştır (Shalata and Neumann 2001).

İki buğday türüne ait altı genotipin (*Triticum aestivum* L. cv. Bezostaya-1, cv. Seri-82, cv. Kırış-66 ve *Triticum durum* Desf. cv. Kızıltan-91, cv. Kunduru 414-44, cv. Ç.1252) tuz stresine karşı oluşturdukları tepkileri incelenmiştir. Yedi gün boyunca iklim kabininde büyütülen bitkilere Arnon - Hoagland besin çözeltisi takviyesi yapılmıştır. Çözeltinin içerisine 200 mM NaCl konularak bitkilerin strese girmeleri sağlanmıştır. Deneme sonunda klorofil miktarı ve bitki büyümesinde düşüşler gerçekleşirken, prolin miktarında ise kontrole göre ciddi artışlar bulunmuştur (Öncel ve Keleş 2002).

Biri tatlı (*Zea mays* L. cv. *Saccharata*) ve diğeri ise yağlı (*Zea mays* L. cv. *Ceratina*) iki mısır çeşidi 0, 100, 200, 300 ve 400 mM NaCl tuz uygulamasına tabi tutulmuştur. İki hafta boyunca 25°C'de %60 nem içeren koşullar altında yetiştirilen bitkilerin yapraklarındaki prolin birikimine ve klorofil miktarlarına bakılmıştır. Büyüme ortamında bulunan tuz miktarı arttıkça bitkilerin su kullanımları azalmıştır. Her iki çeşitte de artan tuz uygulamasıyla birlikte yapraklarda prolin birikimi artmış, klorofil miktarı ise önemli düşüşler göstermiştir. En fazla prolin birikimi, tatlı olan mısır çeşidinin 400 mM tuz uygulamasında gözlenmiştir (Chaum and Kırdmanee 2009).

Sera şartları altında gerçekleştirilen bir denemede mısır bitkisi (*Zea mays* L. cv. Rx 947) 0 ve 10 mM tuz stresine maruz bırakılmıştır. Saksılarda altı hafta boyunca büyütülen bitkiler hasat edilerek çimlenme ve vejetatif üreme değerlerine bakılmıştır. Tuz uygulaması negatif korelasyon göstererek kuru ağırlıkta önemli derecede düşüşe neden olmuştur. Prolin miktarı tuz uygulamasıyla birlikte artarken, total klorofil miktarında ise düşüş gerçekleşmiştir. Ayrıca tuzluluğa paralel olarak Na^+ ve Cl^- iyonlarının miktarı artmasına karşın, K^+ konsantrasyonunda ise azalma meydana gelmiştir (Turan *et al.* 2009).

Molazem *et al.* (2010) yapmış oldukları çalışmada tuz stresine bırakılmış 8 mısır çeşidinde prolin, Na ve klorofil içeriklerine bakılmıştır. Çeşitler arasında bakılan parametreler değişkenlik göstermekle birlikte kontrolleriyle kıyaslandığında tüm çeşitlerde artan tuzla birlikte yapraklardaki Na içeriği ve prolin miktarları artmıştır. Klorofil miktarları ise kontrollerine göre tüm çeşitlerde azalma göstermiştir. Bununla birlikte yaprakların nisbi su içerikleri bakımından çeşitler arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Hidroponik kültürde tuz stresine maruz bırakılmış genç mısır tohumlarında (*Zea mays* L. Cv. Giza 2) NR aktivitesine bakılmıştır. Artan tuz uygulaması yapraklarda ve köklerde Na^+ ve Cl^- iyonları ile şeker ve amino asit birikimini artırmıştır. Nitrat içeriği yapraklarda azalış, köklerde ise artış göstermiştir. Kontrol bitkilerinde ilk ışık fazında

yapraklardaki NR aktivitesi hızlıca artmışken tuz uygulanmış bitkilerde ise düşüş göstermiştir (Abdelbaki *et al.* 2000).

Faustino *et al.* (2000), 12 toleran, 2 ılımlı toleran ve 6 adette hassas mısır varyeteleriyle bir çalışma yaparak tuz stresine karşı mısır bitkilerinin büyüme, iyon birikimi ve NR enzim aktivitelerini araştırmıştır. Tuza hassas varyetelerle toleranlı varyeteler arasında kök büyümesi iyon birikimi ve NR aktivitesi bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur. Hassas varyeteler başta olmak üzere tüm gruplarda taze ve kuru ağırlıklarda azalışlar meydana gelmiştir. Aynı şekilde iyon birikimi ve NR enzim aktivitesi bakımından da hassas varyeteler diğer genotiplerin gerisinde kalmıştır.

İki mısır varyetesinin (Limko ve Koka) kullanıldığı bir çalışmada tuz stresinin büyüme ve bazı biyokimyasal parametrelere (NR aktivitesi, protein içeriği bazı iyonların konsantrasyonları) etkisi incelenmiştir. Tuzluluk her iki varyetede de taze ve kuru ağırlıkta azalışa neden olmuştur. 100 mM NaCl tuz uygulaması her iki bitki grubunda NR aktivitesini düşürmüştür. NR aktivitesindeki düşüş serbest amino asit içeriğini ve protein birikimini etkilememiştir. Her iki varyetenin kök ve gövdesinde serbest amino asit miktarları artmasına karşın büyük bir farklılığa rastlanmamıştır. Limko varyetesinin yaprakları haricinde tuz stresi her iki varyetenin çözülebilir protein içeriğini değiştirmemiştir. Tuzluluk ayrıca kök ve yapraklarda Na^+ içeriğini artırırken Ca^{+2} ve K^+ içeriğinin ise azalmasına neden olmuştur (Sacala *et al.* 2002).

Sacala *et al.* (2008) salatalık bitkisinin (*Cucumis sativus* L.) tuz stresi (10 mM NaCl) ile osmotik strese (%10 PEG 6000) verecekleri cevapları karşılaştırmıştır. Tüm bitkiler hidroponik sistemde yetiştirilmiştir. Her iki stres türü de araştırılan parametrelerde önemli düşüslere neden olmakla birlikte tuz stresinin etkisi %10 PEG'den daha fazla olmuştur. Her iki stres faktöründe de taze ve kuru ağırlıkta önemli derecede azalmalar meydana gelmiştir. Tuz stresi kök ve kotiledonlarda nitrat konsantrasyonunda ve NR enzim aktivitesinde önemli azalışlara neden olmuştur.

Literatürde gerek normal şartlarda gerekse stres şartlarında bitkilere dışardan uygulanan PGPR bakterilerinin bitki büyüme ve gelişmesi üzerine etkileriyle ilgili bazı çalışmalar yapılmıştır (Mayak *et al.* 2004; McMillan 2007; Yang *et al.* 2009). Özellikle önemli kültür bitkileriyle yapılan çalışmalarda PGPR'lerin bitki gelişim ve verimi üzerine artırıcı etkileri belirlenmiştir.

Baldani *et al.* (1987) buğdaya (*Triticum aestivum*) *Azospirillum* spp. inoküle ederek büyüme parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir. Bakteri uygulanan gruplar kontrolleriyle karşılaştırıldığında kuru ağırlık, ürün verimi ve N birikimi bakımından daha etkili oldukları tespit edilmiştir. Uygulamalar özellikle ürün veriminde %15.8 ila %31 oranında artış meydana getirmiştir. NR aktivitesi gösteremeyen mutant bakterilerin ise herhangi bir değişime neden olmadığı rapor edilmiştir.

Fages and Arsac (1991) ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) ve mısır kök rizosferinden bakteri izolasyonu yapmıştır. İzole edilen bakterilerle yapılan denemeler sonucu isolatlar 3 gruba ayrılmıştır. İzole edilen bakterilerin bir kısmı ayçiçeği bitkilerine zarar verirken bir kısmı ise herhangi bir etkiye neden olmamıştır. Bu nedenle bu iki grupta sonraki denemeler için kullanılmamıştır. Üçüncü grup ise gerek çimlenme testlerinde gerekse de bitki biyokütle ağırlıklarında önemli artışlara neden olmuştur. Özellikle bu isolatlardan *Azospirillum lipoferum* ve *Xanthomonas maltophilia* en iyi sonuçları veren bakteri türleri olmuştur.

Patatesin yumru verimi üzerine yapılan bir başka araştırmada *Pseudomonas* sp'nin iki mutant türü (MFE-büyümeyi teşvik edici ve IIM15- büyüme teşvik edici değil) kullanılmıştır. MFE'nin kök kolonizasyonu IIM15'den daha fazla olmuştur. Ayrıca MFE ırkı serada bitki ağırlığını artırırken tarlada ise yumru gelişimini diğer uygulamalara göre daha fazla artırmıştır (Frommel *et al.* 1993).

Arpa (cv. Tokak) ve şeker pancarında (cv. Sonja) gelişimi teşvik edici bakterilerin etkisini araştırmak için yapılan bir araştırmada azot bağlayan (*Bacillus polymyxa*) ve fosfat çözebilen (*Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*) bakteriler kullanılmıştır. Sera

şartlarında gerçekleştirilen araştırmada şeker pancarının kökleri ile arpanın dane verimi kontrolleriyle karşılaştırılmıştır. *Bacillus polymyxa* ile yapılan uygulama başta olmak üzere her iki bakteri uygulaması da denenen bitki gruplarında ürün veriminde artışa neden olmuştur. Bununla birlikte bakteri türlerinin her ikisinin birden interaksyonu ile yapılan çalışmada ise daha etkili artışların olduğu görülmüştür. Artışlar şeker pancarında %7.5-16.5 arasında gerçekleşirken, arpa dane verim artışında ise %8.4-18.2 arasında gerçekleşmiştir (Çakmakçı *et al.* 1999).

Alam *et al.* (2001), pirinçte büyüme, verim ve azot birikimi üzerine bakterilerin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla serbest yaşayan rizobakterilerden olan azotobakter, basillus, enterobakter ve ksantobakter izole edilmiştir. İnokulasyon sonrası bazı bakterilerin pirinç köklerinde asetilen indirgeme aktivitelerinde önemli artışlar olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca bakteri inokulasyonunu kuru madde, verim ve azot birikimini %6 ile %24 arasında artırmıştır. Kök uzunluğu, yaprak alanı ve klorofil içeriği de artmıştır. Buradan yola çıkarak serbest yaşayan rizobakterilerin bitkide büyüme ve gelişmeye fayda sağladıkları hipotezi savunulmuştur.

Kanolanın (*Brassica napus*) rizosferinden 13 adet Gram negatif bakteri izole edilmiştir. 16S rRNA sekans analiziyle tanımlanan bu bakterilerden 8 adeti kök kuru ağırlığını %11 ile %52 arasında önemli derecede artırmıştır. Tanımlanan bakterilerin *Pseudomonas*, *Variovorax*, *Agrobacterium* ve *Phyllobacterium* genuslarında olduğu bildirilmiştir. En önemli etkiyi *Phyllobacterium* genusunun gerçekleştirdiği rapor edilmiştir (Bertrand *et al.* 2001).

Farklı koşullar altında yetiştirilen bakla (*Vicia faba*) ve nohut (*Cicer arietinum*) tohumlarının *Azospirillum brasilense* ile inokulasyonu sonrası verim artışına yönelik bir araştırma yapılmıştır. Sera koşullarında yetiştirilen bitkiler kontrolleriyle karşılaştırıldıklarında hem tane veriminde hem de kök ve gövde gelişiminde önemli iyileştirici etkilere neden olmuştur. Ayrıca bitkiler tuzlu suyla sulandığında, bakteri uygulamaları tuzun bitki büyümesinde meydana getireceği olumsuz etkiyi ortadan kaldıracak yönde gelişim göstermiştir. *Azospirillum brasilense* ile aşıl原因an bitkilerde kök

ve gövde büyümesi ile nodül oluşumu kontrollerine göre oldukça fazla artış göstermiştir. Kök ve gövde kuru ağırlık değerleri kontrollerine kıyasla sırasıyla %51 ve %54 oranında artış sergilemiştir. Benzer şekilde nodül oluşumu da %39 seviyesinde önemli bir artış göstermiştir (Hamaoui *et al.* 2001).

Polyanskaya *et al.* (2000) bezelye bitkisi kök rizosferinden izole ettiği *Beijerinckia mobilis* ve *Clostridium* sp. bakterilerinin bazı kültür bitkilerinde büyüme ve gelişmeye etkilerini araştırmıştır. Her iki bakterinin mineral içerikli gübre ile kombine uygulanmasıyla ürün veriminde artış gerçekleşmiştir. Ayrıca bakteri uygulamaları çimlenme ve büyüme parametrelerinde de artışa neden olmuştur. Bakteri uygulaması salatalık bitkisinde çimlenmede ve bitki boyunda artışa neden olmuştur. Kontrolü ile karşılaştırıldığında arpada da büyüme iyileştirici etkisi kaydedilmiştir. Araştırmacılar bakterilerin birlikte uygulanmasıyla ürün verimi ve bitki gelişimin de daha iyi sonuçlar alınabileceğini rapor etmiştir.

PGPR bakterileri tek başlarına bitki gelişimini teşvik ettikleri gibi birlikte de yine faydalı olabileceğini kanıtlayan deneylerde mevcuttur. Şahin *et al.*(2000), arpa ve şekerpancarı bitkilerinde azot bağlayabilme ve fosfat çözebilme yeteneğine sahip bakterilerle bir araştırma yapmıştır. Araştırmalarında iki tane azot bağlayabilen ve bir tanede fosfat çözebilen bakterileri tek tek, ikişerli ve üçlü kombinasyonlar yaparak bitkilere uygulamıştır. Yapılan tüm inokulant uygulamaları şeker pancarının kök ve gövde veriminde artış meydana getirmiştir. Benzer şekilde kontrolü ile kıyaslandığında arpanın tane verimi ve biokütle ağırlığında da artışlar gerçekleşmiştir. Tek bir bakteri ile yapılan inokulasyon işleminde kontrolleriyle karşılaştırıldığında azot bağlayıcı bakteriler verimi %5.6 ile %11 arasında artırmışken, fosfat çözebilen bakteriler ise verimi %5.5 ile %7.5 oranında artırmıştır. Bakterilerin ikişerli kombinasyonları verimi %7.7 ile %12.7 arasında artırırken üçlü bakteri uygulaması ise kontrolüne göre verimi %20.7 ile %25.9 arasında artırmıştır. Sonuçlar bakteri türlerinin çoklu kombinasyonlarının, tek bir türün inokulasyonundan daha fazla etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Araştırmacılar elde ettikleri faydalı etkinin çevre şartları, bakteri türü ile bitki ve toprak şartlarına göre değişebileceğini rapor etmiştir.

Kombinasyonlu bakteri uygulamalarının yapıldığı bir başka araştırmada 3 farklı uygulama gerçekleştirilmiştir. Bu uygulamalar bakteri, mantar ve bakteri ile mantar karışımı inokulasyon şeklinde ayarlanmıştır. Gerek bakteri gerekse mantar uygulamaları kontrollerine kıyasen büyümede pozitif etki göstermiştir. Bununla birlikte mantar ve bakteri uygulamasının birlikte gerçekleşmesi daha fazla olumlu sonuçlar vermiştir. Uygulamalar ayrıca bitki boyunda ve azot miktarında da artışa neden olmuştur (Adesemoye *et al.* 2008).

Araştırmacılar yapmış olduğu bir diğer çalışmada, domates bitkisinin gelişmesi üzerine bakteri ile bakteri+mantar uygulanmasının ve bu uygulamalara gübre ilavesinin etkisini araştırmıştır. Araştırmalarda gelişimi teşvik edici bakteri olarak *Bacillus amyloliquefaciens* ve *Bacillus pumilus* türleri, mikoriza olarak da *Glomus intraradices* türü kullanılmıştır. Ayrıca farklı oranlarda suni gübre kullanılmıştır. Uygulamanın şekline göre bakılan parametrelerde farklılıklara rastlanılmıştır. Tek başına suni gübre uygulamalarında bakılan parametreler açısından en iyi sonucu %100'lük gübre uygulaması gerçekleştirmiştir. Boy uzunluğu bakımından %70 ve %80 gübre ile birlikte PGPR uygulamasından elde edilen değer %100 gübre uygulamasıyla istatistiksel olarak eşit çıkmıştır. PGPR, AMF (arbuscular mikorizal fungi) ve suni gübrenin %70 ile %80'lik üçlü uygulaması %100'lük suni gübre uygulamasıyla elde edilen boy uzunluğundan istatistiksel olarak yakın çıkmıştır. Benzer artışlar taze/kuru ağırlık, verim ile azot ve fosfat alınımında da gerçekleşmiştir (Adesemoye *et al.* 2009).

Domates bitkisinde (*Lycopersicon esculentum* cv. Solar Set) sıklıkla solmaya neden olan *Ralstonia solanacearum* bakterisinin zarar verici etkisini ortadan kaldırmak amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada gelişimi teşvik edici bakteri grubu olarak *Bacillus pumilis*, *Pseudomonas putida*, BioYield, Equity kullanılmıştır. *Ralstonia solanacearum* ile inokulasyondan bir hafta önce tohumlar *Pseudomonas putida* ile aşılanmıştır. Yapılan tüm uygulamalar hastalık etkeni olan bakterinin etkisi azaltarak bitki gelişimine destek olmuştur. Ayrıca iyileştirici olarak kullanılan bakterilerin ikişerli kombinasyon olarak kullanılmasıyla elde edilen fayda tek tek kullanılmasıyla elde edilen faydadan daha fazla olmuştur (Anith *et al.* 2004).

Üç farklı seviyede tuz stresine maruz kalmış marul bitkisinin (*Lactuca sativa* L. cv. Tafalla), yapraklarında antioksidan enzim aktivitesi, büyüme, mineral alınımı ve fosfataz aktivitesinin belirlenmesine yönelik bir araştırma yapılmıştır. Araştırmada gelişimi teşvik etmesi amacıyla *Pseudomonas mendocina* bakterisi hem tek olarak hem de iki farklı mikoriza türü (*Glomus intraradices* (Schenk & Smith) ve *Glomus mosseae* (Nicol & Gerd.) Gerd. & Trappe) ile kombine halde bitkiye uygulanmıştır. Kontrol grubunda artan tuz büyüme ve gelişme parametrelerine olumsuz etki yapmıştır. Kontrolüne kıyasla tek başına bakteri uygulaması biyokütle ve yaprak su içeriğinde önemli derecede artış sağlamasına rağmen en yüksek artış bakteriyile beraber mantar uygulamasında gerçekleşmiştir. Tuz uygulanmamış bitkilerde ne bakteri uygulaması ne de mikoriza uygulaması fosfataz aktivitesine etki etmemiştir. Ancak tuz uygulanmış bitki gruplarında bakteri uygulamasıyla birlikte fosfataz aktivitesi de önemli derecede artmıştır. Tuz stresi yapraklarda şeker birikimini azaltırken özellikle bakteri uygulanmış yapraklarda prolin birikimi artmıştır. Ayrıca PGPR uygulanmış bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerinde artış gerçekleşmiştir. Araştırmacılar tuza hassas genotiplerde PGPR kullanımının strese karşı bitkide koruyucu rol oynayabileceğini rapor etmiştir (Kohler *et al.* 2009).

Kavino *et al.* (2010) tarla şartları altında yetiştirilen muz (*Musa* spp.) bitkisinde verimi artırmak için *Pseudomonas fluorescens* türü bakteriyile birlikte kitin kullanmıştır. Uygulamalarda yalnızca bakteri kullanımının yanı sıra kitin ve bakteri kombinasyonu uygulaması da yapmışlardır. Kitinin bakterilerle birlikte uygulandığı bitki gruplarında bitki boyu, salkım verimi, salkımdaki adet sayısı ve ürün kalitesinde artış görülmüştür. Kontrolleriyle kıyaslandığında bitki yapraklarının N, P ve K içeriklerinde de önemli artışlar kaydedilmiştir. Suni gübrelerin üretiminin masrafının çok olması ve aşırı kullanılması çevre kirliliğine neden olmaktadır. Sonuçlar değerlendirildiğinde araştırmacılar kombine bakteri uygulamalarının hem düşük maliyetli olduğunu hem de çevre dostu olduğunu rapor etmiştir.

Su stresine maruz kalmış fesleğen bitkisinde PGPR'lerin antioksidan enzim içeriği ve fotosentetik pigment üzerine etkisi araştırılmıştır. Gelişmeyi teşvik etmesi için

Pseudomonades sp., *Bacillus lentus* ve *Azospirillum brasilens* bakteri türleri kombine olarak kullanılmıştır. Stres antioksidan enzim aktivitesinde önemli değişimlere neden olmuştur. En yüksek konsantrasyona CAT ve POX aktivitesinde rastlanılmıştır. Stresin derecesi arttıkça yaprakların APX seviyeleri azalmıştır. Bakteri uygulamaları fesleğen bitkisinin antioksidan enzim aktiviteleri ve klorofil içeriğini artırıcı yönde etki etmiştir (Heidari and Golpayegani 2012).

Tuzlu suyla sulanmış mısır bitkisinde meydana gelen stresin etkisini azaltılmak için yapılan bir araştırmada *Enterobacter aerogenes* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerinin ortak etkisi araştırılmıştır. Tuzlu su ile muamele edilmiş mısır bitkilerinde büyüme azalmıştır. Bakteri inoküle edilmiş mısır bitkilerinde ise tuzun olumsuz etkisi bakteriler tarafından yatıştırılmıştır. En fazla büyüme ve verim parametrelerindeki (kök/gövde boyu ile kök/gövde taze ve kuru ağırlığı) artışı *Pseudomonas fluorescens* bakterisi sağlamıştır. Benzer şekilde en fazla klorofil içeriği ve K^+/Na^+ oranı da yine *P. fluorescens* bakteri uygulanmış bitkilerde gerçekleşmiştir (Zahir et al. 2012).

Saber et al. (2013), tuz stresi altında yetiştirilen kolza bitkisinin (*Brassica napus* L.) ürün ve verimi üzerine PGPR bakterilerinin etkisini araştırmıştır. Dört farklı kolza tohumu 0, 4, 8 ve 12 dS/m konsantrasyonlarında tuz stresine maruz bırakılmıştır. PGPR olarak *Azotobacter chroococcum*, *Busillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* ve *Azospirillum lipoferum* bakterileri kullanılmıştır. Çalışma sonunda yaprak alanı, tane verimi, bitki boyu ve 1000 dane ağırlığında %1 ila %5 arasında öneme sahip farklılıklar bulunmuştur. Bakteri uygulamaları kontrolü ile karşılaştırıldığında değerlendirilen parametreler açısından olumlu etki göstermiştir.

Domates bitkisinde bitki köklerini kesen ve büyümeyi engelleyen bir nematodla mücadele amacıyla bir araştırma yapılmıştır. Araştırmada bitkiye destek sağlaması için *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus* isimli PGPR bakterilerinden faydalanılmıştır. Bakteri uygulaması nematod infeksiyonundan 45 gün önce yapılmıştır. En yüksek kuru ağırlığa, bitki boyuna, meyve sayısına ve verime *Serratia marcescens*

ile muamele edilmiş bitki gruplarında rastlanılmıştır. En düşük ağırlığa ise sadece nematod uygulanan bitki gruplarında rastlanılmıştır (Almaghrabi *et al.* 2013).

İki farklı pirinç (*Oryza sativa* L.) genotipinde tuz stresinin meydana getirdiği hasarı iyileştirmek için PGPR olarak *Pseudomonas* sp. bakterileri kullanılmıştır. Deneme için bitki gruplarına 100 mM NaCl tuzu uygulanmıştır. *Pseudomonas* sp. uygulanmış bitki gruplarında kontrollerine kıyasla bitki boyu ile kök ve gövde kuru ağırlığında önemli artışlar meydana getirmiştir. Ayrıca bakterili gruplarda yaprak alanında kontrolüne göre artış göstermiştir. (Sen and Chandrasekhar 2014).

Üç farklı rizobakter (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* and *Azotobacter vinelandii*) uygulamasının tuzlu koşullar altında yetiştirilen mısır (*Zea mays* L.) bitkisine etkileri araştırılmıştır. Uygulanan 3 farklı tuz konsantrasyonu (0, 35 ve 70 mM NaCl) bakımından bitkilerin büyüme parametreleri kontrollerine göre karşılaştırılmıştır. Kontrolüne kıyasla her iki tuz uygulamasında (35 ve 70 mM) bitki uzunluğunu en fazla *Azotobacter vinelandii* artırmışken, *Pseudomonas fluorescens*'in 35 mM NaCl uygulamasında artış gösterdiği, 75 mM tuz uygulamasında ise önemli bir artışa neden olmamıştır. *Pseudomonas putida* ise her iki tuz uygulamasında da bitki uzunluğunda önemli bir artışa neden olmadığı görülmüştür. Sap çapı bakımından en iyi artışı *Pseudomonas fluorescens* gösterirken, kuru ağırlık ve yaprak yüzey genişliği açısından en fazla artışı ise *Azotobacter vinelandii* göstermiştir (Abd El-Ghany *et al.* 2015)

ACC-deaminaz üretebilen PGPR bakterileri etilen oluşumunu engelleyebileceği için stres şartları altında bitki büyüme ve gelişmesine olumlu etkisi daha fazla olabilecektir. Bu nedenle ACC-deaminaz üretebilen bakterilerin tarımda kullanımı ürün verimi açısından etkili olabilecektir (Glick 2005; Contesto *et al.* 2008; Çakmakçı 2009).

Tuz stresi altındaki mısır bitkisine ACC deaminaz üretebilen bakteriler uygulanmıştır. Uygulama tohumlara petri kaplarında bakteri emdirilmesi ile başlatılmıştır. Daha sonra farklı konsantrasyonlarda (6, 9 ve 12 dS/m) tuz uygulanmış bitkiler hasat edilerek büyüme özellikleri bakımından incelenmiştir. Sonuçta bakteri uygulanan gruplarda

kontrollerine kıyasla kök ve gövde uzunluğu ile taze ağırlıklarda artış meydana geldiği bildirilmiştir (Kausar and Shahzad 2006).

ACC deaminaz aktivitesine sahip 4 rizobakterin *Arabidopsis indicate*'de kök oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada bakteri uygulamalarının hepsinde kontrole kıyasla kök uzunluğunu artırdığı görülmüştür (Contesto *et al.* 2008).

Tuzdan etkilenmiş topraklarda yetişen buğday bitkisinin rizoferinden 10 adet bakteri izole edilmiştir. Yapılan ön denemeler sonucu fayda verebileceği düşünülen bakterilerden 3 adeti ile saksı denemelerine geçilmiştir. Tanımlaması yapılan bakterilerin *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Serratia proteamaculans* türleri olduğu tespit edilmiştir. Bakteri inoküle edilmiş buğday tohumlarına 1 (kontrol), 5, 10 ve 15 dS/m konsantrasyonlarında tuz uygulanmıştır. Üç haftalık bir büyüme süreci sonrası bitkiler büyüme özelliklerini belirlemek amacıyla hasat edilmişler. Sonuçlar değerlendirildiğinde ACC deaminaz aktivitesine sahip olan isolatların bitki boyu, taze ve kuru ağırlıkta kontrollerine göre önemli derecede artış sağladığı tespit edilmiştir (Zahir *et al.* 2009).

Domates tarlasının toprağından izole edilmiş bakterilerin tuz stresine girmiş domates bitkisine etkileri araştırılmıştır. Tanımlaması yapılan bakteriler ACC-deaminaz üretme, fosfat çözebilme, siderofor ve fitohormon üretme yetenekleri göz önüne alınarak seçimleri yapılmıştır. Bu bakteriler içerisinde en iyi performansı veren 3 bakteri türü *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* ve *P. fluorescens* olarak tesbit edilmiştir. Domates bitkisine %2'lik tuz uygulaması kök uzunluğu ve bitki büyümesini yaklaşık %60 oranında inhibe etmiştir. Gövde uzamasını ise %75'e varan oranlarda düşürmüştür. Seçilen bakterilerin inokülasyonu neticesinde köklerde meydana gelen inhibisyon oranı en fazla %20-25 arasında bulunmuştur. Hatta %6 tuz içeren ortamlarda bile ACC-deaminaz üreten bakterilerin etilen oluşumunu engellediği bildirilmiştir. Bu sayede kök uzunluğundaki artış kontrolüyle kıyaslandığında pozitif yönde olduğu belirtilmiştir. Çalışma sonrası bakteri uygulamasının bitkilerde yaprak çapı/sayısı, salkım sayısı ve lateral kök oluşumunu teşvik ettiği rapor edilmiştir (Tank and Saraf 2010).

Siddikee *et al.* (2010), kıraç topraklardan ve 6 doğal halofit bitki rizosferinden toplamda 140 bakteri izole etmiştir. İzolatların IAA üretme, fosfat ve çinko çözme, hidrolitik enzim üretimi (kitinaz, selüloz, pektinaz gibi), nitrojen fiksasyonu ve amonyak üretimi gibi özellikleri belirlenerek kategorize edilmiştir. Sayılan özellikler bakımından PGPR kategorisinde değerlendirilebilecek 36 izolat ACC deaminaz üretme özelliğine göre tekrar teste tabi tutulmuştur. Sonuçta bu bakteriler içerisinde 25 tanesi pozitif çıkmıştır. İzolatlar içerisindeki 14 halotolerant bakteri 150 mM NaCl tuz stresine maruz kalmış kanola bitkisine uygulanmıştır. Kontrolleriyle karşılaştırıldığında bakteri uygulanan bitki gruplarında kök uzunluğunda %5.2 ile %47.8 oranında, kuru ağırlıkta ise %16.2 ile %43 oranında artış görülmüştür. Sonuçlar değerlendirildiğinde ACC deaminaz içeren bakteri gruplarının tuz stresine maruz kalmış bitkilerde stresin etkilerini azaltabileceği bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada tuzdan etkilenmiş toprakların bulunduğu saksılara mısır tohumu ekilmiştir. Bitkilerde tuzun meydana getireceği zararı indirmek için tohumlara azot, biyogaz çözeltilisi ve PGPR bakterileri (*Pseudomonas fluorescens* ve *Enterobacter aerogenes*) farklı şekillerde uygulanmıştır. Yapılan denemeler sonucu her bir uygulama kontrole göre bitki gelişmesinde olumlu sonuçlar vermiştir. Fakat en iyi gelişimi her üç uygulamanın birlikte verildiği bitkiler göstermiştir. Bitkilerin kök/gövde uzunluğu ile kuru ağırlıkları, 100 tane ağırlıkları, prolin birikimleri ve tanelerin N, P ve K içerikleri kontrolleriyle karşılaştırıldığında en fazla gelişim üçlü uygulama sonucu elde edilmiştir (Ahmad *et al.* 2014).

Hye *et al.* (2014) tuz stresine maruz bırakılmış ACC deaminaz içeren iki farklı bakterinin (*Pseudomonas syringae* ve *Pseudomonas fluorescens*) bitki gelişimine etkisini araştırmıştır. Bitkilere bakteri uygulamalarının yanı sıra yarım doz ve tam dozluk NPK (azot, fosfor ve potasyum) gübreside uygulanmıştır. Bakteri ve tam doz NPK gübresi uygulanmış gruplarda bitki ve koçan boyu, koçan sayısı ve koçandaki tane sayısı diğer uygulamalara göre önemli artış göstermiştir. Benzer şekilde sap uzunluğu, tane ağırlığı ile tane ve saptaki N, P ve K miktarları da bakteri ve tam doz gübre uygulanmış gruplarda daha fazla bulunmuştur. Bakteriler arasında maximum verim

artışını *Pseudomonas fluorescens* uygulamaları gerçekleştirmiştir. Nadeem *et al.* (2006)'nın yapmış olduğu bir çalışmada 4, 8 ve 12 dS.m⁻¹ NaCl uygulanmış mısır bitkilerinde bakteri (*Pseudomonas* sp.) ve NPK gübresi birlikte uygulamasının yukarıdaki çalışmaya benzer sonuçlar verdiği kaydedilmiştir. Tuz uygulaması ile birlikte düşüş gösteren kök/gövde taze ve kuru ağırlık ile klorofil miktarlarında PGPR ve NPK gübresi uygulamasının kontrole göre artış gerçekleştirdiği rapor edilmiştir.

Bu çalışmada Tuz Gölü halofit bitkilerin kök rizosferinden izole edilen bakteriler kullanılarak mısırın tuz stresi toleransının artırılması amaçlanmıştır. Çalışma Ülkemizde yabani halofit bitkilerin rizosferinden bakteri izolasyonu ve bir kültür bitkisine uygulanması açısından ilk olması bakımından önem arz etmektedir. Yukarıda sunulan literatür özetleri, çalışmamızın yapılması için iyi bir gerekçe olarak değerlendirilebilir.

3. MATERYAL ve YÖNTEMLER

3.1. Materyal

3.1.1. Yararlanılan alet ve cihazlar

İnkübatör	: Memmert, GERMANY, INBE 410 1583
Çalkalayıcı	: Gallenkamp
Otoklav	: Hirayama, JAPAN, HVE 50
Hassas terazi	: Shimadzu AY220
Kül fırını	: Yücebaş YM-14
İklim dolabı	: Sanyo, Japonya ve Jeno Tech, Kore
Buzdolabı	: Arçelik
Derin dondurucu (-30°C)	: Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	: Nuaire
Karıştırıcı	: Fisons Whirlmixer
Manyetik karıştırıcı	: Chiltern HS31
Masa santrifüjü	: Hettich EBA 21
Otomatik pipetler	: Ependhof, Axigen
pH metre	: WTW unilab pH metre
EC metre	: Eutech cyberscan PC 10
Soğuk su banyosu	: Huber Polystat CC1
Sıcak su banyosu	: Wise Bath
Soğutmalı santrifüj	: Hettich Micro 22 R
UV Spektrofotometre	: Shimadzu UVmini-1240
Multiskan Spektrofotometre	: Multiscan GO
Görüntüleme Cihazı	: Fusion Fx Vilber Lourmat
Kurutma dolabı	: Gemo
Elektroforez	: Bio-Rad
Saf Su cihazı	: Nüve NS 112
Vortex karıştırıcı	: IKA, U. S. A., MS2

3.1.2. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanmaları

Deneyler boyunca kullanılan çözeltilerin kullanım yerleri ile hazırlanış biçimleri aşağıda sunulmuştur. Denemelerde kullanılan kimyasallar, Sigma, Merc ve Fluka şirketlerinden temin edilmiştir.

1. Stok NaCl (1 M) (Tuz uygulamaları için): 58.44 gr NaCl 1000 ml saf suda çözülerek elde edilmiştir.
2. Azotsuz (N-free) Besiyeri (pH: 7.0-7.2) (Bakterilerin azota olan ihtiyaçlarını belirlemek için): 10 gr sukroz, 5 gr L-malik asit, 0.1 gr K_2HPO_4 , 0.4 gr KH_2PO_4 , 0.2 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.01 gr $FeCl_3$, 0.1 gr NaCl, 0.02 gr $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 0.02 gr $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ve 12 gr agar tartılarak 1000 ml saf su içerisinde çözülmüştür.
3. ACC'li DF (Dworkin & Foster Tuz Ortamı) besiyeri (pH: 7.2) (ACC deaminaz aktivitesi tayini için): DF besiyeri hazırlanmış ve içerisine 100 mg ACC ilavesi yapılmıştır. Bu işlem için 300 ml saf su içerisine 1.33 gr KH_2PO_4 , 2 gr Na_2HPO_4 , 0.067 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.67 gr Glukoz, 0.67 gr Glukonik Asit, 0.67 gr Sitrik Asit, 0.34 mg $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 3.33 mg H_3BO_3 , 3.73 mg $MnSO_4 \cdot H_2O$, 41.53 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 26.07 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 3.33 mg MoO_3 ilave edilmiştir.
4. Nutrient agar besiyeri: 20 gr Nutrient Agar 1 l saf su içinde çözülmüştür. pH 7.0'a ayarlandıktan sonra 121°C'de 15 dk steril edilmiş ve 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır.
5. Arnon ve Hogland Besi Çözeltisi: 1.02 gr KNO_3 , 0.492 gr $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 0.23 gr $NH_4H_2PO_4$, 0.49 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 2.86 gr H_3BO_3 , 1.81 gr $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.08 mg $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 0.22 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0.6 mg $FeSO_4$, 0.6 mg tartarik asit saf su içerisinde çözülerek hacmi 1 litreye tamamlanmıştır.
6. Halofil Besiyeri pH: 7.2-7.4 (Bakteri gelişimi için) : 200 gr NaCl, 2 gr KCl, 1.5 gr $CaCl_2$, 20 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3 gr tri-Na sitrat, 10 gr Yeast ekstrat, 7.5 gr Kazein hidrolizatı, 36 mg $FeCl_2 \cdot 4H_2O$, 0.36 mg $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, 20 gr agar hacmi 1 litreye tamamlanarak hazırlanmıştır.
7. Fizyolojik su (bitki kök örneklerinin muhafazası için): 200 gr NaCl, 2 gr KCl, 20 gr $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 3 gr tri-Na sitrat, 1.5 gr $CaCl_2$ 1 litre saf suda çözülmüştür.

- 8.** 0.1 M KH_2PO_4 (pH: 7.0), %1 PVP, 1 mM EDTA (Antioksidan enzimlerin homojenizasyon tamponu): 3.4 gr KH_2PO_4 200 ml saf suda karıştırıldı, 1 N KOH ile pH 7.0'ye kadar titre edildikten sonra saf su ile 250 ml'ye getirilmiş ve 2.5 gr PVP ve 0.07 gr EDTA ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 9.** BCA (Bişinkonik) Reaktif (Protein tayini için): 25 ml Bişinkonik asit çözeltisi üzerine %4'lük CuSO_4 çözeltisinden 500 μl ilave edilerek karıştırılmıştır.
- 10.** %0.1'lik TCA (Trikloroasetik Asit)-Lipid peroksidasyon için homojenizasyon çözeltisi: 250 ml saf su içerisine 0.25 gr TCA çözülerek hazırlanmıştır.
- 11.** %0.5'lik TBA (Tiobarbutirik Asit)-Lipid peroksidasyon için reaksiyon çözeltisi: 250 ml saf su içine 50 gr TCA çözünmüş ve sonra içerisine 1.25 gr TBA ilave edilerek hafif ısıda çözününceye kadar karıştırılmıştır.
- 12.** %5'lik $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ (titanyum disülfat çözeltisi): H_2O_2 miktarının belirlenmesinde kullanılır. 5 ml $\text{Ti}(\text{SO}_4)_2$ 100 ml saf su içerisine ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 13.** %19'luk NH_4OH (H_2O_2 miktarının belirlenmesinde kullanılır): 19 ml NH_4OH 'ın 100 ml saf su içerisinde karıştırılmasıyla elde edilmiştir.
- 14.** 2 M'lık H_2SO_4 (H_2O_2 miktarının belirlenmesinde kullanılır): 160 ml saf su içerisine 50ml %98'lik H_2SO_4 yavaş yavaş ilave edildikten sonra son hacim 250 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 15.** 65 mM K_2HPO_4 , pH: 7.8 (Süperoksit anyonu miktarının belirlenmesinde kullanılan tampon): 2.83 gr K_2HPO_4 200 ml saf su da çözüldükten sonra pH: 7.8'e ayarlanmış ve son hacmi saf su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 16.** 10 mM Hidroksilamin (Süperoksit anyonu miktarının ölçülmesinde kullanılır): 0.0139 gr alınarak 20 ml saf suda çözündürülmüştür.
- 17.** 17 mM amonyum benzonzo sülfonik asit (ABSA) (Süperoksit anyonu miktarının ölçülmesinde kullanılır): 0.294 gr ABSA alınarak üzeri 100 ml saf suda çözündürülerek hazırlanmıştır.
- 18.** 17 mM 1-Naftilamin (Süperoksit anyonu miktarının ölçülmesinde kullanılır): 0.243 gr 1-Naftilamine 10 ml asetonda çözüldükten sonra son hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 19.** 103 mM KH_2PO_4 , pH: 7.5 (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 2.11 gr KH_2PO_4 , 100 ml saf suda çözülüp 1N KOH ile pH: 7.5'e ayarlanmış ve son hacim saf su ile 150 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

- 20.** 40 mM H_2O_2 çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): %35'lik H_2O_2 'den 346 μl alınmış ve son hacim saf su ile 100 ml olacak şekilde hazırlanmıştır.
- 21.** 5 mM H_2O_2 çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde standart grafik hazırlamak için kullanılan): %35'luk H_2O_2 'den 43 μl alınıp son hacmi saf su ile 100 ml'ye ayarlanarak hazırlanmıştır.
- 22.** 0.1 M NaH_2PO_4 , pH: 5.5 (Peroksidazın aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon çözeltisi): 3.9 gr Na_2HPO_4 alınarak 200 ml saf suda çözülerek pH: 5.5'e ayarlanmıştır. Son hacmi saf suyla 250 ml'ye tamamlanmıştır.
- 23.** 5 mM guaiakol + 5mM H_2O_2 (Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): 138 μl quaiakol ve 38 μl H_2O_2 ($d=1.13$ g/mol) alınmış ve 250 ml 0.1 M fosfat tamponu (0.1 M NaH_2PO_4 , pH: 5.5) içinde çözülerek hazırlanmıştır.
- 24.** 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7.8) (SOD için tampon çözelti): 1.7 gr KH_2PO_4 200 ml saf suda çözülerek pH:7.8'e ayarlanmıştır. Son hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 25.** 13 mM L-metiyonin çözeltisi (SOD reaksiyon karışımı için): 0.485 gr metionin 23. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.
- 26.** 75 μM NBT-(Nitroblue Tetrazolium Klorür) (SOD reaksiyon karışımı için): 0.015 gr NBT alınmış ve 23. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.
- 27.** 0.1 mM Na_2EDTA (SOD reaksiyon karışımı için): 0.009 gr Na_2EDTA alınır, 23. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.
- 28.** %0.05 Triton X-100 (SOD reaksiyon karışımı için): 125 μl Triton X-100 alınarak 250 ml 50 mM KH_2PO_4 tamponu içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.
- 29.** 2 μM Riboflavin (SOD aktivitesi için): 0.037 gr Riboflavin, 100 ml saf suda çözülür. Bu işlemle 1 mM'lık riboflavin elde edilmiştir. 3 ml'lik reaksiyon karışımının 2 μM Riboflavin içermesi için elde edilen 1 mM'lık Riboflavin çözeltisinden 60 μl Riboflavin alınmıştır.

30. 50 mM sodyum fosfat tamponu, pH 7.0 (APX için reaksiyon karışımı): 0.78 gr NaH_2PO_4 tartılır, 70 ml saf su içerisinde çözülüp pH: 7'ye ayarlanır. Son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
31. 0.5 mM Askorbik asit (APX için reaksiyon karışımı): 0.009 gr askorbik asit 50 mM sodyum fosfat tamponu içerisine ilave edilerek hazırlanmıştır.
32. 0.1 mM Na_2EDTA (APX için reaksiyon karışımı): 0.004 gr Na_2EDTA 50 mM sodyum fosfat tamponu içerisine ilave edilerek hazırlanmıştır.
33. 2 mM H_2O_2 (APX için reaksiyon karışımı): 22 μl H_2O_2 alınmış ve 50 mM sodyum fosfat tamponu içerisine ilave edilerek hazırlanmıştır.
34. 50 mM Tris-HCl (GR aktivitesi için): 0.06 gr Tris bir miktar saf su içerisinde çözülerek pH:7.8'e ayarlanır ve son hacim 10 ml'ye tamamlanmıştır.
35. 0.5 mM EDTA (GR aktivitesi için): 0.0015 gr EDTA daha önce hazırlanmış olan 50 mM Tris-HCl içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
36. 0.25 mM NADPH çözeltisi (GR aktivitesi için): 0.002 gr NADPH 10 ml saf su içerisinde çözülmüştür.
37. 1 mM Okside Glutasyon-GSSG (GR aktivitesi için): 0.006 gr GSSG 10 ml saf su içerisinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.
38. %5 TCA (Enzimatik olmayan antioksidanların homojenizasyon tamponu): 10 gr TCA (trikloroasetik asit) 150 ml saf suda çözüldükten sonra saf su ile son hacmi 200 ml'ye tamamlanmıştır.
39. 200 mM NaH_2PO_4 pH: 7.5 (Total GSH belirlemek için): 0.312 gr NaH_2PO_4 7 ml saf suda çözülüp pH:7.5'a ayarlanmış ve son hacmi saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır.
40. 6 mM DTNB (1 mM), Total GSH için: 0.0753 gr DTNB 30 ml 100 mM sodyum fosfat tamponunda (pH: 6.8) çözülmüştür.
41. 1.5 M Triethanolamine (ASA ölçümü için): 2.24 ml Triethanolamine saf su ile son hacmi 10 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
42. 150 mM KH_2PO_4 pH: 7.4 (ASA ölçümü için): 2.04 gr KH_2PO_4 tartılarak 80 ml saf suda çözülmüştür. pH: 7.4'e ayarlandıktan sonra hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır.
43. 10 mM DTT (ASA ölçümü için): 0.008 gr L-(–)-Dithiothreitol tartılarak 5 ml saf suda çözülmüştür.
44. %0.5'lik N-Ethylmaleimide (ASA ölçümü için): 0.025 gr N-Ethylmaleimide 5 ml saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

- 45.** %10'luk TCA (ASA ölçümü için): 2.5 gr TCA bir miktar saf suda çözüldükten sonra son hacim saf su ile 25 ml tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 46.** %44'lük H_3PO_4 (ASA ölçümü için): Bir miktar saf su üzerine 44 ml fosforik asit ilave edilmiş ve son hacim 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.
- 47.** %4'lük 2,2'-dipyridyl (ASA ölçümü için): 0.4 gr 2,2'-dipyridylin, 10 ml %70'lik etanol içerisinde çözülmesiyle hazırlanmıştır.
- 48.** %3'lük $FeCl_3$ (ASA ölçümü için): 0.3 gr $FeCl_3$ 10 ml saf suda çözülerek elde edilmiştir.
- 49.** %3'lük Sülfosalisik asit (prolin metodu için homojenizasyon çözeltisi): 3 gr sülfosalisik asit 100 ml saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.
- 50.** Asit ninhidrin hazırlanışı (prolin içeriği için): 1.25 gr ninhidrin 30 ml asetik asit içerisine katılarak hafif ısıda karıştırılmış ve üzerine 6 M'lık fosforik asitten 20 ml ilave edilerek hazırlanmıştır.
- 51.** 0.1 M Tris-HCl (pH: 7.6), %1 PVP, 7.5 mM sistein, 1 mM Na_2EDTA , %0.5 BSA ve 5 mM Merkaptotanol (NR aktivitesi için homojenat tamponu): 1.2 gr Tris 70 ml saf suda çözülüş ve pH: 7.6'ya ayarlanmıştır. Daha sonra içerisine 1 gr PVP, 0.09 gr sistein, 0.037 gr Na_2EDTA , 0.5 gr BSA ve 40 μ l merkaptotanol ilave edilerek karıştırılmış ve son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 52.** 100 mM KH_2PO_4 , pH: 7.8, 1 mM EDTA, 10 mM KNO_3 , 0.3 mM NADH (NR aktivitesi için kullanılan aktivite tamponu): 0.272 gr KH_2PO_4 , 0.0074 gr Na_2EDTA , 0.02 gr KNO_3 , 4 mg NADH 10 ml saf suda çözülmüş ve pH: 7.8'e titre edilmiştir. Son hacmi saf su ile 20 ml tamamlanmış çözelti günlük taze olarak hazırlanmıştır.
- 53.** 1 M Baryum asetat (NR aktivitesinde kullanılan çözelti): 2.56 gr baryum asetat'ın 10 ml saf suda çözülerek hazırlanmıştır.
- 54.** %1'lik Sülfanilamid (NR aktivitesinde kullanılan çözelti): 0.5 gr sülfanilamid'in 50 ml 2 N HCl içinde çözünmesiyle hazırlanmıştır.
- 55.** %0.02'lik N-1-Naftiletilediamnidihiidroklörür (NED) (NR aktivitesinde kullanılan çözelti): 0.02 gr N-1-Naftiletilediamnidihiidroklörür'ün 100 ml saf suda çözülmesiyle hazırlanmıştır.
- 56.** 50 μ M'lık $NaNO_2$ çözeltisi (Süperoksit anyonu ve NR aktivitesi için; standart grafik hazırlamak için kullanılan çözelti). 0.35 mg $NaNO_2$ 'in 100 ml saf suda çözülmesiyle hazırlanmıştır.

- 57.** %10 Amonyum persülfat (polimerizasyon başlatıcı): 0.05 gr amonyum persülfat son hacim 500 µl olacak şekilde saf suda çözülür.
- 58.** 0.5 M Tris-HCl (pH: 6.8) (Elektroforezde jel hazırlamak için kullanılan tampon): 6.06 gr Tris bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH: 6.8'e ayarlanmış ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır
- 59.** 1.5 M Tris-HCl (pH: 8.8) (Elektroforezde jel hazırlamak için kullanılan tampon): 18.2 gr Tris bir miktar saf suda çözüldükten sonra pH: 8.8'e ayarlanmış ve toplam hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır
- 60.** %10'luk SDS (Elektroforezde jel hazırlamak için kullanılan çözelti): 1 gr SDS üzerine son hacim 10 ml olacak şekilde saf su ilave edilerek çok hafif ısıtmak suretiyle, şeffaflaşınca kadar karıştırılmıştır.
- 61.** %30'luk akrilamid- %0.8'lik bis-akrilamid çözeltisi (Elektroforez ayırma ve yığma jellerinin hazırlanmasında kullanılan): 30 gr akrilamid ve 0.8 gr bis-akrilamid saf su ile iyice çözüldükten toplam hacim 100 ml'ye tamamlanmış, kullanım dışında renkli şişede 4°C'de saklanmıştır.
- 62.** SDS-PAGE'de kullanılan yürütme tamponu: 3 gr Tris (25 mM pH:8.3) ile 14 gr glisin (192 mM) yaklaşık 50 ml saf suda iyice çözülmüş ve üzerine 1 gr %1'lik SDS ilave edilerek hacmi saf su ile 1000 ml'ye tamamlanmıştır.
- 63.** SDS-PAGE'de kullanılan numune tamponu: 2.5 ml 125mM Tris-HCl pH: 6.8, 4 ml %14'lük SDS, 2 ml %100'lük gliserin ve %0.2'lik brom timol mavisinden karıştırılarak toplam hacimleri 10 ml'ye tamamlanarak hazırlanmış ve bu tampona kullanmadan hemen önce 1 ml β-merkaptoetanol ilave edilmiştir.
- 64.** Fiksing çözeltisi (Jeldeki proteinleri, boyama öncesi sabitleştirmek için kullanılan): 50 ml saf su üzerine 1 gr TCA ilave edilerek iyice çözüldükten sonra, 50 ml izopropil alkolün yavaş yavaş ilavesiyle 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- 65.** Boyama çözeltisi (Elektroforez sonrası jeldeki proteinlerin boyanmasında kullanılan): 0.5 gr Coomassie R-250, 250 ml metanolde çözülmüştür. Üzerine 50 ml glasiyel asetik asit ilave edilmiş ve son hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlanmıştır.
- 66.** Yıkama çözeltisi (Boyama sonrası jeldeki fazla boyayı uzaklaştırmak için kullanılan): 100 ml asetik asit üzerine 450 ml metanol ve 450 ml saf su ilave edilerek toplam hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Halofit bitkilerin toplanması, örneklenmesi ve teşhisi

Tuz Gölü havzasında vejetasyon süresi dikkate alınarak 4-6 Haziran 2012 ve 10-12 Haziran 2013 tarihlerinde olmak üzere 2 kez yapılan arazi çalışmaları sonrasında 6 farklı istasyondan 30 halofit bitki türü doğal habitatlarından toplanmıştır. Toplanan bitkiler arazide yaygın herbaryum tekniklerine göre numaralandırılıp preslenerek teşhis amaçlı olarak laboratuvara getirilmiştir. Ayrıca bitkinin alındığı tarih ve saat bilgileri, bitki boyu ve alındığı mevkiler de kayıt altına alınmıştır. Bitki örneklerinin her birinin ayrı ayrı lokasyon bilgileri GPS yardımıyla kaydedilmiş olup, her bir bitki örneği doğal ortamlarında farklı uzaklıklardan fotoğraflanmıştır. Toplanan bitkilerin lokasyon bilgisi ve toplanma alanlarının genel bilgileri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Bitki örneklerinin lokasyon bilgileri

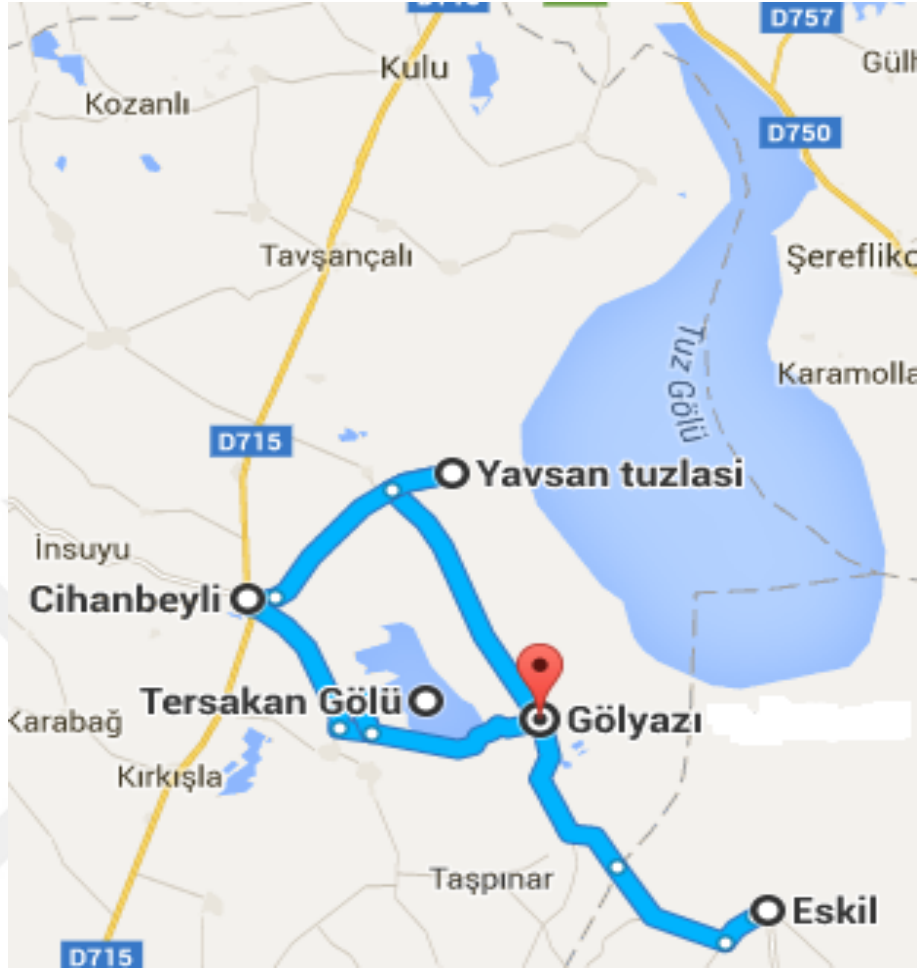
İstasyon No	Toplanma Bölgesi	Lokasyon Bilgisi	İstasyon No	Toplanma Bölgesi	Lokasyon Bilgisi
1	Eskil - Tuz Gölü arası	N 38° 28.195’ E 33° 27.380’	4	Tuz Gölü kenarı	N 38° 32.296’ E 33° 56.578’
2	Gölyazı - Tersakan Gölü arası	N 38° 33.058’ E 33° 10.034’	5	Eskil - Yavşan tuzlası arası	N 38° 37.480’ E 33° 08.946
3	Tersakan Gölü kenarı	N 38° 32.477’ E 33° 05.594’	6	Yavşan tuzlası içi	N 38° 45.977’ E 33° 09.922’

Çalışma alanı Aksaray-Sultanhanı-Eşmekaya-Eskil-Gölyazı hattı doğrultusundadır. Bölge Eskil’in 3 km güneyi ile 3-7 km doğusunu kapsayan alandır. Eskil, Aksaray il sınırları içinde olup gölün güneyindedir. Çalışma alanı Eskil çöplüğünü de içine alır ve

alandaki *Juncus* bataklığı hâkimdir. Ayrıca Cihanbeyli-Gölyazı bölgesi çalışma alanı; Konya il sınırları içinde bulunan Gölyazı, Bolluk Gölü, Yavşan Tuzlası ve Tersakan Gölü güneyini kapsamaktadır. Çalışma alanlarının uydu görüntüsü Şekil 3.1’de verilerek, Şekil 3.2’de harita üzerinde işaretlenmiştir. Alan, halofitik bataklık ve sodyum sülfatlı steplerden oluşur (Şekil 3.3). Bölgede tuz işleme tesisleri bulunmaktadır.



Şekil 3.1. Çalışma alanı uydu görüntüsü



Şekil 3.2. Çalışma alanı haritası



Şekil 3.3. Çalışma alanından bir kesit (Tersakan Gölü)

Çalışmada bitki rizosfer toprağı ve köklerini örnekleme için aşağıdaki işlem yapılmıştır. Bitki kökleri, toprağın dikkatlice kazılmasıyla rizosfer toprağını da bulunduracak şekilde dikkatlice çıkartılmıştır. Steril bir bisturi ile rizosfer toprağı bulunduran köklerden uygun homojen kesitler alınmış ve içerisinde steril fizyolojik su bulunan tüplere aktarılmıştır (Tindall 1991; Hassanshahian and Mohamadian 2011). Tüpler etiketlenerek içerisinde buz küvetlerinin bulunduğu termoslara konulmuş ve en geç 24 saat içerisinde ortalama $+4^{\circ}\text{C}$ 'de laboratuvara transfer edilmiştir. Çalışma kapsamında toplanan halofit bitkilerin tür teşhisleri Erzincan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi ve bitki sistematigi alanında uzman Prof. Dr. Ali KANDEMİR tarafından yapılmıştır.

3.2.2. Bakterilerle ilgili deneyler

3.2.2.a. Bitki rizosferinden bakteri izolasyonu ve saflaştırılması

Uygun koşullar altında laboratuvara taşınan bitki örneklerinden rizosfer bakteri izolasyonu yapılmıştır. Bakteri ekimi için halofil besi yeri kullanılmıştır (Tindall 1991). Besiyeri otoklavda 121°C 'de, 1 Atm basınç altında 15 dk süre ile steril edilmiştir. İzolasyon ve ekimler steril bir kabin içerisinde yapılmıştır. İçerisinde bitki kök örneklerinin bulunduğu halofilik fizyolojik çözelti içeren tüpler, önce iyice karıştırılmış ve rizosfer toprağındaki bakterilerin çözelti içerisine geçmesi sağlanmıştır. Her bir tüpteki rizosfer çözeltisinden 2'şer ml alınarak katı halofil besiyeri içeren petrilere yayma plak ekimi yapılmıştır. Bu şekilde yapılan ekimde rizosfer toprağında bulunabilecek bakterilerin izolasyonu amaçlanmıştır.

Her bir petri üzerine gerekli etiketlemeler yapılarak 25°C 'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası her bir petride çoğalma gösteren bakteri örnekleri steril öze yardımıyla alınmış ve tekrar halofil besiyeri içeren petrilere çizme ekim yapılarak saflaştırılması sağlanmıştır. Her ekim öncesi luplu özenin bek alevinde sterilizasyonu sağlanmıştır. Toplanan 30 bitki örneğı içerisinde sadece 17 adet bitkiden halofilik bakteri izolasyonu gerçekleştirilebilmiştir. Bu bitkilerden de toplam 22 bakteri

izolatı elde edilmiştir. Elde edilen saf kültürlerden içerisinde 5 ml halofil besiyeri içeren yatık agarlı tüplere ekim yapılarak +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.b. Bakterilerin tanılanması

İzole edilen bakterilerin tanısı 16S rRNA dizi analizine göre yapılmıştır. DNA izolasyon kiti olarak Nanobiz Bakteriyal Genomik DNA izolasyon kitinden yararlanılmıştır. PCR için; PCR: 50 µl hacimde; 1X Taq Buffer (Thermo), 0,2 mM dNTP (Thermo) 16S universal primer (27F ve 1492R), 1.5 mM MgCl, 0.2 U ThermoHot Start Taq Polimeraz, 150 ng bakteriyal genomik DNA kullanılmıştır. PCR şartları ise 95°C’de 5 dk 30 X (94°C’de 30s + 55°C’de 30s + 72°C’de 45s) + 72°C’de 5 dakikadır. DNA dizi analizi için Bigdye Cycle Sequencing Kit v3.1 kullanılmış ve deneyler ABI 3100 XL Genetic Analyzer cihazında gerçekleştirilmiştir. Filogenetik analiz için Mega Phylogenetic programından faydalanılmıştır. Alignment için ClustalW kullanılmış ve filogenetik ağaç neighbour-joining yöntemi ile çizimi gerçekleştirilmiştir (Siddikee *et al.* 2010; Shukla and Goyal 2011). Bakteri tanıları Refgen şirketinden hizmet alımı yapılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.c. Gram reaksiyon testi

Bakteri izolatlarının hücre duvarlarındaki farklılığı ortaya koymak için Gram reaksiyon testi yapılmıştır. Bu işlem için steril bir lam üzerine %3’lük KOH çözeltisinden birkaç damla damlatılmış ardından nutrient agarda geliştirilen taze bakteri kültüründen bir miktar alınarak lam üzerindeki KOH çözeltisi ile iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışım öze ile yukarı doğru kaldırılarak uzama olup olmadığına bakılmıştır. Bakterilerin %3’lük KOH ile muamelesi sonucu hücre duvarında parçalanma meydana gelirse, sitoplazma ve nükleer materyal açığa çıkarak viskoz bir yapı oluşturur. Bu durum bize bakterinin KOH pozitif yani Gram negatif özellikte olduğunu göstermiştir. Parçalanma olmuyor ve karışım sulu bir hal alıyorsa bu durumda bakteriler KOH negatif yani Gram pozitif olarak değerlendirilmiştir (Halebian *et al.* 1981; Chen *et al.* 2008).

3.2.2.d. ACC deaminaz enzim aktivitesinin belirlenmesi

Tanısı yapılan bakterilerin ACC deaminaz enzimi üretip üretemediklerini belirlemek amacıyla, içerisinde ACC bulunan DF (Dworkin & Foster salt medium) katı besiyerine ekimleri yapılmıştır. Öncelikle stok kültürü yapılan bakteriler, halofil besi yerine ekilerek ve 27°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. DF besiyeri içerisinde bulunan maddeler (ACC hariç) karıştırılarak pH: 7.2’ye ayarlanmıştır. Besiyeri içeriği otoklavlandıktan sonra 40°C’ye kadar soğuması beklenmiştir. 30 ml steril su içerisinde 100 mg ACC çözülüp, steril filtreden geçirilerek besiyerine eklenmiştir. Halofil besiyerinde gelişen bakteriler steril öze ile alınarak hazırlanan DF Salt besiyerine ekilmiştir. 7-10 gün inkübasyon süresi sonunda bakteri gelişimi görülen gruplar ACC deaminaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Li 2000; Penrose and Glick 2003; Shahzad *et al.* 2013).

3.2.2.e. Azot fiksasyonu yapan bakterilerin belirlenmesi

İzolatların azotsuz ortamda yaşama becerilerini belirlemek amacıyla azot fiksasyon yeteneklerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaç için azotsuz besiyeri (N free besiyeri) kullanılmıştır. Literatüre göre içeriği hazırlanan besiyeri 121°C’de 15 dk otoklavda steril edilmiştir. Otoklav sonrası 45°C’ye kadar soğutulduktan sonra steril petrilere dökülerek katılaşmaya bırakılmıştır (Han *et al.* 2005). Stok kültürden alınan bakteriler nutrient agar besiyerine çizgi ekimle kontamine edilerek 2-5 gün inokülasyona bırakılmışlardır. Süre sonunda gelişen taze bakteri kolonileri azotsuz besiyeri ortamına inkübe edilmiş ve 7-10 gün süreyle 25-27°C’ye ayarlı inkübatörde gelişmeye bırakılmıştır. Azotsuz ortamda gelişim gösterebilen bakteriler azot fiksasyonu pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.2.f. Çalışılacak izolatların seçimi

Toplanan bitki örneklerinden izole edilen 22 adet bakteri izolatı arasından bitki büyümesini teşvik edebilecek bakteri gruplarını belirlemek amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Ön denemelere geçilmeden önce halofil besi yerinde zayıf gelişim gösteren bakteri grupları ayrıştırılmıştır. Bu sayede çalışma amacına uygun olmayan bakteri grupları elimine edilmiştir. Kalan bakteriler içerisinde halotolerant olanları belirlemek ve zorunlu halofil (obligat) olanların eliminasyonu gerçekleştirmek amacıyla literatürlerde kullanılan farklı içeriğe sahip besi yerlerine ekim yapılmıştır (Çizelge 3.2). Besiyeri ortamında en fazla gelişim gösterebilen 10 adet bakteri örneği çalışılacak bitkiye inoküle edilerek petri denemelerine tabi tutulmuştur. Bu denemeler sonrası bitki büyüme parametreleri (çimlenme, kök/gövde uzunluğu ve kuru ağırlık) açısından olumlu sonuç verebilen 4 bakteri izolatı ile saksı denemeleri yapılmasına karar verilmiştir.

Çizelge 3.2. Bakteri ekimi yapılan farklı besiyerleri

BESİYERİ	İÇERİĞİ
Plate Count Besiyeri (PCA)	Pepton (kazeinden) (5 gr/l), Yeast ekstrakt (2.5 gr/l), D(+) Glukoz (1 gr/l), Agar-agar (14 gr/l), Distile su (1000 ml)
Nutrient Besiyeri	Lab-Lemco tozu (1 gr/l), Pepton (5 gr/l), Yeast ekstrakt (2 gr/l), Agar-agar (15 gr/l), NaCl (5 gr/l), Distile su (1000 ml)
Nutrient Besiyeri (250 mM NaCl)	Lab-Lemco tozu (1 gr/l), Pepton (5 gr/l), Yeast ekstrakt (2 gr/l), Agar-agar (15 gr/l), NaCl (9.8 gr/l), Distile su (1000 ml)
Normal (tuzsuz) Besiyeri (0 mM NaCl)	KCl (2 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Halofil Besiyeri 1 (75 mM NaCl)	NaCl (4.383 gr/l) KCl (2 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)

Çizelge 3.2. (Devam)

Halofil Besiyeri 2 (150 mM NaCl)	NaCl (8.766 gr/l), KCl (2 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Halofil Besiyeri 3 (250 mM NaCl)	NaCl (14.61 gr/l), KCl (2 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Halofil Besiyeri 4 (1,71 M NaCl)	NaCl (100 g/l), KCl (2 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Modifiye Halofil Besiyeri 1 (Normal)	NaCl (200 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Modifiye Halofil Besiyeri 2 (25 mM NaCl)	NaCl (1,461 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Modifiye Halofil Besiyeri 3 (250 mM NaCl)	NaCl (14.61 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), Distile su (1000 ml), Agar (20 gr/l)
Halofil Broth	NaCl (200 gr/l), KCl (2,0 gr/l), MgSO ₄ .7H ₂ O (20 gr/l), tri-Na sitrat (3 gr/l), CaCl ₂ (1.5 gr/l), Yeast ekstrakt (10 gr/l), kazein hidrolizatı (7.5 gr/l), FeCl ₂ .4H ₂ O (36 mg/l), MnCl ₂ .7H ₂ O (0.36 mg/l), Distile su (1000 ml)
Tryptic Soy Broth	Pepton (kazeinden) (17 gr/l), Pepton (soyadan) (3 gr/l), D(+) Glukoz monohidrat (2.5 gr/l) NaCl (5 gr/l), K ₂ HPO ₄ (2.5g/l), Distile su (1000 ml)

3.2.2.g. İnokulumların hazırlanması

Literatürde bakterilerin tohumlara inokulasyonunda farklı yöntemler kullanılmıştır. Bu tip uygulamalar bitki türlerine göre de değişebilmektedir. Yapılan çalışmalarda tohuma inokulasyon işlemlerinde Triptik Soy Broth (Zehnder *et al.* 2000), Twin 20 (Çakmakçı

vd 2001), saf su (Domenech *et al.* 2006), 100 mM KH_2PO_4 (Beauchamp and Kloepper 2003), 100 mM sodyum fosfat (Jetiyanon and Kloepper 2002), 100 mM MgSO_4 (Paul and Nair 2008; Gamalero *et al.* 2009) ve %2 sükröz (İşler 2009) gibi çözeltiler kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan mısır tohumlarına bakteri inokulasyonu için yapılan ön denemelerde en uygun inokulum çözeltisinin 100 mM MgSO_4 çözeltisi olduğu belirlenmiştir. Diğer inokulum çözeltileri tek başına kullanıldıklarında, tohumlarda çimlenmede yetersizlik, mantar kontaminasyonu veya çimlenme davranışlarında görülen bozukluklar belirlendiğinden tercih edilmemişlerdir.

Bakterilerin inokulum süspansiyonlarının hazırlanması için önce TSB besi yerinde çoğaltılan bakteriler, 6000 rpm'de 20 dk santrifüj edilerek çöktürülmüştür (Ji *et al.* 2006). Santrifüj sonrası süpernatant kısmı atılmış ve çökelek 100 mM MgSO_4 çözeltisi ile iki kez yıkanmıştır. Bakteri çökeleği 100 mM MgSO_4 çözeltisi kullanılarak dikkatlice çözünmüş ve spektrofotometrede 600 nm'de $10^8/10^9$ CFU/ml olacak şekilde hazırlanmıştır (Chang 2007; Gamalero *et al.* 2009). Kör olarak 100 mM MgSO_4 kullanılmıştır.

3.2.3. Tohumların sterilizasyonu ve inokülasyonu

Bu çalışmada halofil bakterilerin inokulasyonu için tuza hassas bir bitki olan mısır (*Zea mays* L.) tohumları kullanılmıştır. Tohumlar inokülasyon öncesi %5'lik sodyum hipokloritte (NaClO) 3 dakika hafifçe çalkalanarak steril edilmiştir (Rohanipoor *et al.* 2013). Bu işlemten sonra, tohumlar steril saf suda 6 kez yıkanmış ve bir kez de %80'lik etil alkol çözeltisinde 3 dk sterile edilmiştir. Daha sonra 20 dakika boyunca steril saf suda kimyasal kalıntısı kalmadığına kanaat getirilinceye kadar 4 kez durulanmıştır. Sterilize edilmiş mısır tohumları yukarıda ifade edilen bakteri süspansiyon çözeltisi (100 mM MgSO_4) içinde 8 saat şişme ve inokulasyona tabi tutulmuştur (Yıldırım *et al.* 2008).

3.2.4. Bitkilerin büyüülmesi

Araştırmamızda kullanılan mısır (*Zea mays* cv. Hido) tohumları MAY Tohumculuktan temin edilmiştir. Öncelikle mısır tohumlarının çimlenme ve fide büyümesini %25, %50 ve %75 oranında inhibe eden tuz (NaCl) konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu amaç için ilk olarak 10 farklı tuz konsantrasyonu (25, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 225 ve 250 mM) kullanılmıştır. Yapılan ön denemeler sonrası amaca uygun olarak 3 tuz konsantrasyonu (75, 150 ve 250 mM) belirlenmiştir. Kontrol için saf su (0.0 mM NaCl) kullanılmıştır. Denemeler, 1.5 kg steril kum/perlit karışımı (3:1) bulunduran saksılarda gerçekleştirilmiştir. Her bir saksı, içerisine kum konulmadan önce alkol ve steril saf su ile sterilize edilmiştir. Tuz uygulaması saksılardaki kum ortamına tohum ilavesinden önce yapılmıştır. Bu işlem için öncelikle kullanılan kumun su tutma kapasitesi belirlenmiştir. Her bir saksıya ilave edilecek su tutma kapasitesi miktarı içerisine 0, 15, 30 ve 50 ml NaCl ilave edilerek üzerleri saf su ile tamamlanmış ve saksılara verilecek uygun tuz konsantrasyonları (0.0, 75, 150 ve 250 mM) ayarlanmıştır. Daha sonra steril şartlar altında her bir saksıya 10 adet tohum ekimi gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar 4 tuz ortamı (0.0, 75, 150 ve 250 mM) için 5 tekrarlı olarak kurulmuştur. Saksılarda tohum çimlenmesi ve fide gelişimi yaklaşık 15.000 ± 100 lükslük %100 floresans ışığı altında, kontrollü şartlarda 16/8 saat aydınlık/karanlık periyodunda ve $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de (gündüz/gece) 15 gün süreyle gerçekleştirilmiştir (Keser 2009). Ayrıca saksılara 10. gün saf su yerine %50 gücünde Hoagland çözeltisi verilmiştir. Onbeş gün sonra hasat edilen bitki örneklerinin bir kısmı ile büyüme parametrelerinin ölçümleri yapılmıştır. Diğer örnekler ise 0.25 gr ağırlıklarda tartılıp paketlenerek analizler için -20 veya -80°C 'de saklanmıştır.

3.2.5. Bitki büyüme parametreleri

Öncelikle kök ve gövde boyu ölçülen bitki örneklerinin hassas terazide taze ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra bitki örnekleri kuru ağırlıklarının belirlenmesi için bir etüve yerleştirilmiş ve 70°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Süre sonunda kurutulmuş örneklerin

kuru ağırlık kayıtları alınmış ve bu örnekler içsel element analizi için kullanılmıştır (Kacar 2014).

3.2.6. Bitki örneklerinin element içerikleri

Kontrol ve tuz stresi uygulama sonucu elde edilen mısır bitkisinde Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} iyonlarının miktar tayini için ekstraktların hazırlanmasında Kacar (2014) tarafından açıklanan yöntemler izlenmiştir. Buna göre mısır bitkisi kök ve yaprak örnekleri 70°C 'de 48 saat kurutulduktan sonra, kuru yakma yöntemiyle içsel element analizleri yapılmıştır. Porselen bir havanda öğütülerek toz haline getirilmiş bitki numunesinden hassas terazide 200 mg tartılarak porselen krozeler içerisine alınmıştır. Bitki dokularının tamamen parçalanması için krozeler 550°C kül fırınında 5 saat yakılmıştır. Elde edilen kül içerisinde yanmayan dokuları tamamen yakmak ve ortamı asidik yapmak için üzerine 2 ml %3.3'lük HCl ilave edilmiştir. Sonra numuneler üzerine 18 ml ilave saf su konulmuş ve elde edilen homojenat mavi bant filtre kâğıdından süzölmüştür. Elde edilen ekstraktın Na^+ , K^+ , ve Ca^{+2} içerikleri, Varian marka FS220 model Atomik Absorbsiyon Spektrometre cihazında her bir elementin emisyon modunda gerçekleştirilmiştir (Kacar ve İnal 2008).

3.2.7. Membran hasarının ölçülmesi

Her bir uygulama için rastgele seçilen bitkilerden 10 mm çapında diskler alınmıştır. Kesilen kısımlardaki elektrolit kaçağını temizlemek için diskler saf su ile yıkanmıştır. Daha sonra yaprak disk örneklerinden her bir tüpe 5 disk ve 3 tekerrür olacak şekilde yerleştirilerek üzerlerine 10'ar ml saf su ilave edilmiştir. Tüpler oda sıcaklığında hafif çalkalamalı bir standta 12 saat bekletildikten sonra, Elektrik Kondiktivimetre (EC Metre) cihazı ile EC_1 değerleri okunmuştur. Ardından tüpler 121°C 'de 20 dakika otoklavlanarak tüm dokuların tamamen ölmesi ve içeriğindeki elektrolitlerin ortama verilmesi sağlanmıştır. Otoklavlanan numuneler 25°C 'ye kadar soğutulduktan sonra EC_2 değerleri okunmuştur. Daha sonra saksı denemesi sonunda elde edilen bitki

örneklerinin elektriksel iletkenlikleri %EC olarak belirlenmiştir (Sese and Tobita 1998; Kaya *et al.* 2013).

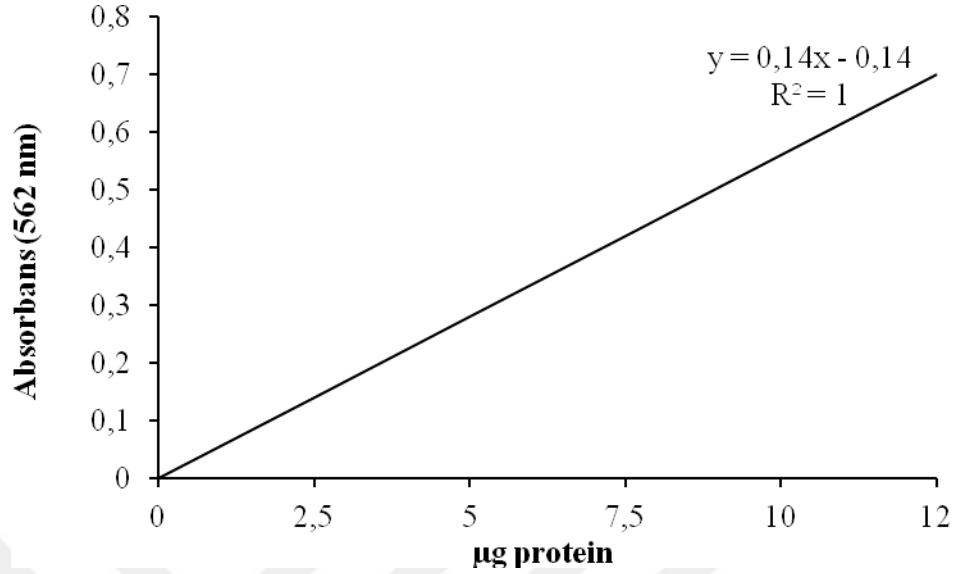
$$\%EC = (EC_1 - EC_2) * 100$$

EC_1 = Tuzluluk stresindeki yaprağın otoklav edilmeden önceki EC değeri

EC_2 = Tuzluluk stresindeki yaprağın otoklav edildikten sonraki EC değeri

3.2.8. Çözünebilir protein miktarının belirlenmesi

Mısır bitkisinin yapraklarından rastgele alınan 0.5 gr doku örneği soğutulmuş bir havan içerisine alınmış ve sıvı azot içinde toz haline gelinceye kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine on katı kadar homojenizasyon tamponundan (100 mM KH_2PO_4 , pH: 7.0) konularak doku örneklerinin iyice parçalanması sağlanmıştır. Elde edilen karışım ependorf tüplere alınarak soğutulmuş santrifüje yerleştirilmiştir. Tüpler, +4°C’de 15 000 rpm’de 15 dk santrifüj edildikten sonra süpernatantları alınmıştır. Süpernatanttan 100 µl alınmış ve üzerine 100 µl fosfat tamponu konulup vortekslenerek seyreltilmiştir. Elde edilen yeni karışımdan 20 µl alınarak mikropyletlere yerleştirilmiş ve üzerine BCA reaktifinden 200 µl ilave edilmiştir. Pleytler içeriğiyle beraber kısa bir müddet çalkalandıktan sonra 60°C’de 15 dk bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 562 nm’de bir multiscanda okunmuştur. 200 µl BCA reaktifi kör numune olarak kullanılmıştır. Hesaplamalar için gerekli standart grafiğin hazırlanmasında stok BSA (bovine serum albumin) çözeltisi kullanılmıştır. Bu işlem için 10 ml saf su içerisinde 10 mg BSA çözülmüştür. Bu şekilde 1 ml’inde 1 mg protein içeren standart sığır albumin (BSA) çözeltisinden 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12 µg protein içeren hacimler plate aktarılıp, saf su ile bütün tüplerin hacimleri 12 µl’ye tamamlanmıştır. Sonrasında kuyucukların her birine 200 µl de BCA (bicinonic asid + $CuSO_4$) reaktifi ilave edilip karıştırılmıştır. Kör numune olarakda 200 µl BCA reaktifi kullanılmıştır. Yapılan spektrofotometrik ölçümler sonucunda, 562 nm’deki absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerlerinden yararlanarak standart grafik elde edilmiştir (Şekil 3.4). Hazırlanan standart grafik kullanılarak her bir örnek için protein miktarı µg protein/gr doku olarak belirlenmiştir (Smith *et al.* 1985; Chan and Wasserman 1993).



Şekil 3.4. Protein tayininde kullanılan standart grafik

3.2.9. Lipid peroksidasyon seviyesinin belirlenmesi

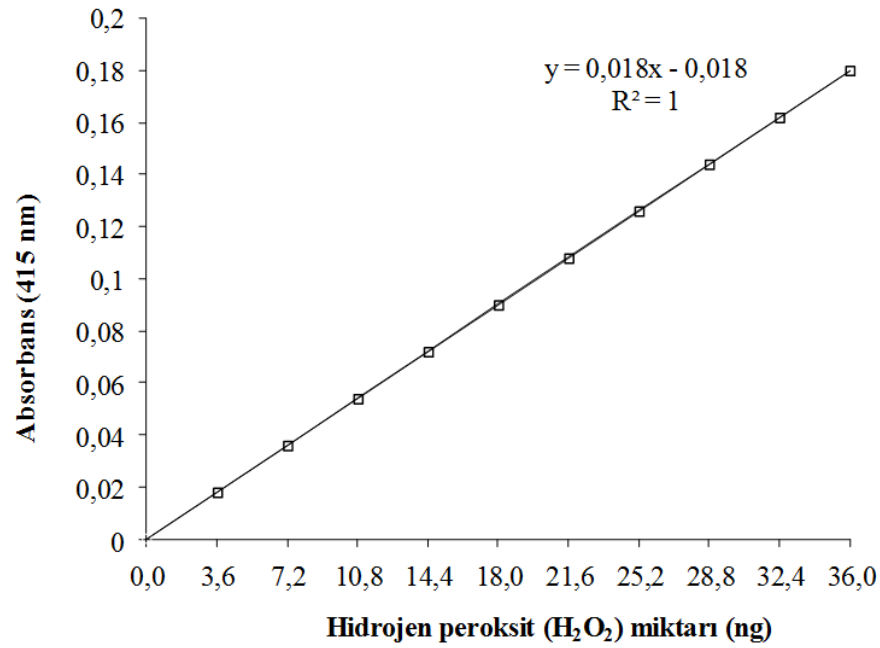
Taze mısır yaprağı örneklerinden 0.5 gr alınarak önce sıvı azotla toz haline getirilmiştir. Üzerine %0.1'lik TCA çözeltisinden 5 ml ilave edilerek tamamen parçalanıncaya kadar havanda homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat ependorf tüplerine aktararak 13 000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmından 4 ml alınmış ve üzerine 1 ml %0.5'lik TBA çözeltisi aktarılmıştır. Karışım vortekslendikten sonra 30 dk kaynar suda inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüpler buz banyosuna alınarak reaksiyon durdurulmuştur. Elde edilen kırmızımsı renkli çözelti bir kez daha 12 000 rpm'de 5 dk daha santrifüj edildikten sonra süpernatantın 532 ve 600 nm'deki absorbans değerleri belirlenmiştir (Demiral and Türkan 2005).

Lipid peroksidasyon seviyesinin (MDA miktarı olarak) belirlenmesinde 532 nm'deki absorbans değerinden 600 nm'deki absorbans değeri çıkarılmıştır. Bir ml karışım içerisindeki MDA miktarı aşağıdaki formüle göre hesaplanıp sonuçlar nmol/gr doku olarak sunulmuştur (Hodges *et al.* 1999).

$$\text{MDA (nmol/}\mu\text{l)} = [(A_{532} - A_{600}) / 155000] * 10^6 \text{ veya } \text{MDA} = (A_{532} - A_{600}) * 6.45$$

3.2.10. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bitki dokularına ait 0.5 gr doku örneği sıvı azotla toz haline gelinceye kadar havanda homojenize edilmiştir. Üzerine 5 ml soğuk aseton (-20°C) ilave edilerek tamamen parçalanıncaya kadar homojenize edilmiştir. Homojenat ependorf tüplere alınarak +4°C'de 9500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatanttan 1.5 ml alınarak üzerine önce 0.15 ml %5'lik Ti(SO₄)₂ daha sonra da 0.3 ml %19'luk NH₄OH ilave edilerek karıştırılmıştır. Çökelek meydana geldikten sonra karışım 9500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı ayrıştırıldıktan sonra geriye kalan pelet üzerine 2 M'lık H₂SO₄ çözeltisinden 3 ml ilave edilerek vortekslenmiştir. Pelet iyice çözüldükten sonra absorbansı 415 nm'de ölçülmüştür (Xu *et al.* 2006). Hesaplamalarda kullanılan standart grafiği hazırlamak için 3 mM'lık %35'lik H₂O₂ stok çözeltisi kullanılmıştır. Stok çözeltiden tüplere sırasıyla 3.6, 7.2, 10.8, 14.4, 18, 21.6, 25.2, 28.8, 32.4 ve 36 ng H₂O₂ içeren hacimler alınmış ve üzerleri aseton ile 1.5 ml'ye tamamlanmıştır Daha sonra karışım üzerine 0.15 ml %5'lik Ti(SO₄)₂ ve 0.3 ml %19'luk NH₄OH eklenmiştir. Tüp içerisinde çökelek oluştuğundan sonra +4°C'de 9500 rpm'de 15 dk daha santrifüj edilmiştir. Süpernatantı uzaklaştırılan tüplerdeki pelet 3 ml 2 M'lık H₂SO₄ ile çözülüp absorbansı 415 nm'de köre karşı okunmuştur. Her bir absorbansa karşılık gelen ng H₂O₂ değerlerinden faydalananarak standart grafik oluşturulmuştur (Şekil 3.5).

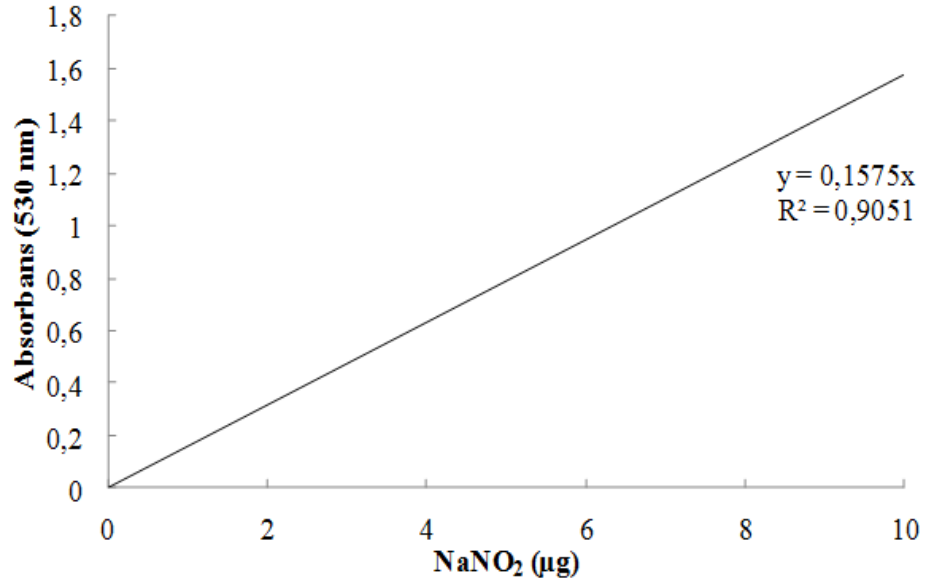


Şekil 3.5. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.2.11. Süperoksit anyonu (O₂^{•-}) miktarının belirlenmesi

Soğuk bir havan içerisinde sıvı azotla toz haline getirilmiş 0.5 gr yaprak dokusu 5 ml fosfat tamponunda (65 mM K₂HPO₄, pH: 7.8) homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım +4°C’de 8500 rpm’de 10 dk santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 10 mM hidroksilaminden 100 µl ve 65 mM fosfat tamponundan 900 µl ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışım 25°C’de 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası elde edilen karışımın 1 ml alınır ve üzerine 1 ml 17 mM aminobenzen sülfonik asit ile 1 ml 17 mM 1-naftilamin eklenerek tekrar oda sıcaklığında 20 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda karışımın absorbansı 530 nm’de okunarak kaydedilmiştir (Yildiztugay *et al.* 2014). Süperoksit anyonu miktarını hesaplamak amacıyla sodyum nitrit (NaNO₂) kullanılarak aynı yöntemle göre hazırlanan standart grafik kullanılmıştır. Standart grafiğin oluşturulması amacıyla 50 µM NaNO₂⁻ çözeltisinden 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 ml alınarak üzerleri saf su ile 10 ml’ye tamamlanmıştır. Elde edilen karışımlardan 1 ml alınıp üzerlerine 1 ml 17 mM aminobenzen sülfonik asit ile 1 ml 17 mM 1-naftilamin eklenerek oda sıcaklığında 20 dk inkübasyona

bırakılmıştır. Süre sonunda karışımın absorbansı 530 nm’de okunarak kaydedilmiştir (Şekil 3.6). Sonuçlar NaNO₂ standart grafiğine bakılıp hesaplanarak µg/g doku olarak verilmiştir (Liu *et al.* 2010).



Şekil 3.6. Süperoksit anyonu miktarlarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.2.12. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

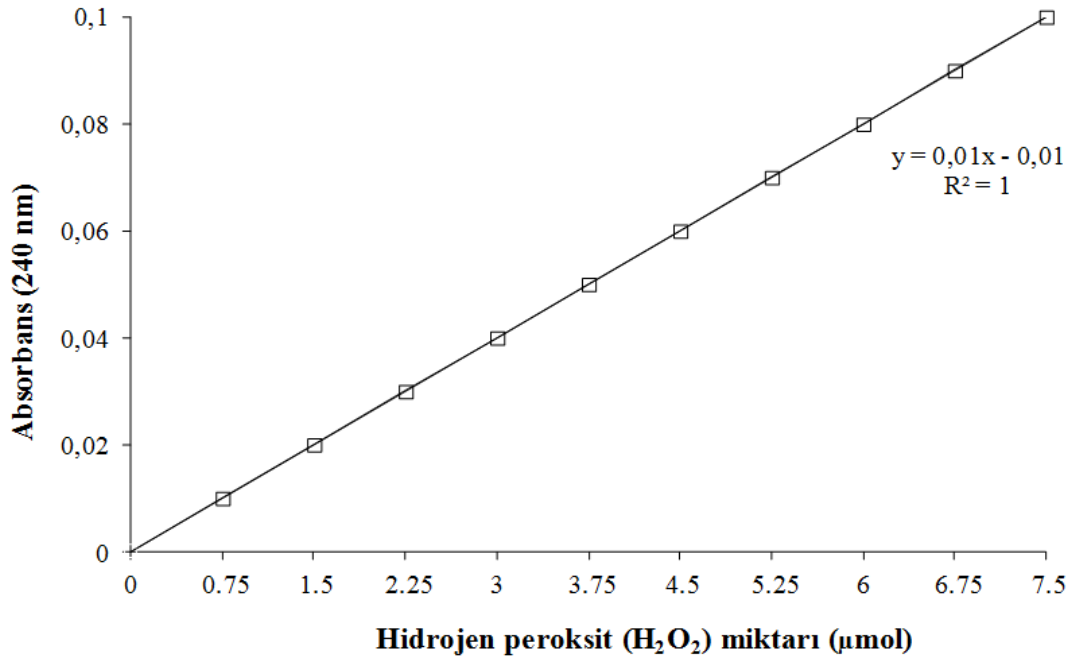
Bitki dokularına ait (0.5 gr) örnek soğuk bir havan içerisinde alınmıştır. Üzerine sıvı azot konulup toz haline gelinceye kadar havanda homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine on katı kadar homojenizasyon tamponundan (100 mM KH₂PO₄, pH: 7.0) konularak doku örneklerinin iyice parçalanması sağlanmıştır. Elde edilen karışım +4°C’de 15 000 rpm’de 15 dk boyunca santrifüj edildikten sonra süpernatant alınmıştır. Tüm antioksidan enzimlerin aktivite deneyleri için bu süpernatant enzim kaynağı kullanılmıştır.

3.2.12.a. Katalaz aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz (CAT; EC:1.11.1.6) aktivitesinin tayini enzimin, H_2O_2 'i oksijen ve suya dönüşümünü katalizlerken meydana gelen absorbans azalışının 240 nm'de belirlenmesi temeline dayanmaktadır.

Aktivite ölçümü için 103 mM KH_2PO_4 (pH: 7.5) fosfat tamponundan spektrofotometre küvetine 1.45 ml konularak üzerine 1.5 ml 40 mM H_2O_2 çözeltisi ilave edilmiştir. Son olarak 50 μ l enzim ekstraktı ilave edilip hızlıca karıştırılarak küvet spektrofotometreye yerleştirilmiştir. Daha sonra 240 nm'de 3 dk boyunca absorbansdaki azalış köre karşı okunmuştur. Çözeltilerin ışıktan etkilenme ihtimaline karşı deney boyunca ortam karanlık tutulmuştur. Kör numune olarak reaksiyon karışımının enzim katılmamış örneği kullanılmıştır (Pereira *et al.* 2002).

Hesaplama amacıyla standart grafik hazırlamak için, 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 3 ml'lik küvetlere sırasıyla; 0.15, 0.3, 0.45, 0.6, 0.75, 0.9, 1.05, 1.2, 1.35 ve 1.5 ml konulmuştur. Küvetlerin son hacimleri saf su ile 1.5 ml'ye tamamlanıp her bir küvetin üzerine sırasıyla 1.45 ml 103 mM KH_2PO_4 ile 50 μ l saf su ilave edilmiştir. Örneklerin absorbansı 240 nm'de köre karşı okunmuş ve absorbans değerlerine karşılık gelen μ M H_2O_2 değerleri kullanarak standart grafik oluşturulmuştur (Şekil 3.7). 25°C'de, 1 dakika içinde, absorbansı 1 μ mol azaltan enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak belirlenmiş ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi (EU/mg protein) olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.7. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

3.2.12.b. Guaikol peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Guaikol peroksidaz (POX; EC 1.11.1.7) enzim aktivitesi tayini, substrat olarak guaikol ve H₂O₂'nin kullanıldığı reaksiyonda meydana gelen kırmızı renkli ürünün absorbansındaki artışın 470 nm'de belirlenmesi temeline dayanır. Aktivite ölçümü için kuvvet içerisine; 100 mM NaH₂PO₄ (pH: 5.5) çözeltisinden 100 ml ve substrat çözeltisinden de 3 ml konulmuş (5 mM guaikol ve 5 mM H₂O₂) ve üzerine 50 μl enzim ekstraktı eklenmiştir. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilmiştir. Absorbansın doğrusal olarak arttığı bölgedeki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanmıştır. Kör olarak enzim içermeyen reaksiyon karışımı kullanılmıştır. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak ifade edilmiş ve sonuçlar mg protein başına düşen enzim ünitesi (EU/mg protein) olarak sunulmuştur (Ye *et al.* 2003).

3.2.12.c. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini

Süperoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal olarak indirgenmesini inhibe etme yeteneğinin ölçülmesine dayanır (Beauchamp and Fridovich 1971). Reaksiyon karışımı (3 ml); 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 μM NBT, 2 μM riboflavin, 0.1 M Na_2EDTA ve %0.025 triton X-100 içermektedir. NBT ve riboflavin ışıktan etkilenebileceği için karışımlar alüminyum folyoya sarılmış kaplar içerisinde muhafaza edilmiştir. Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2.84 ml alınmış ve üzerine 100 μl enzim ekstraktı ilave edilmiştir. Reaksiyon, tüp üzerine 2 μM 'lık riboflavin çözeltisinden 60 μl pipetlenmesiyle başlatılmıştır. Tüp, karıştırıldıktan hemen sonra oda sıcaklığında, 300 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 'lik ışık kaynağının karşısında 15 dk tutulmuş ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durdurulmuştur. 15 dk içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okunmuştur. Köre; aynı işlemin enzimsiz örneğinden oluşmuştur. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 azalmasına neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilmiş ve değerler EU/mg protein olarak sunulmuştur (Yordanova *et al.* 2004; Ning *et al.* 2015).

3.2.12.d. Askorbat peroksidaz aktivitesi tayini

Askorbat peroksidaz (APX; EC 1.11.1.11) aktivitesi tayini, askorbatın oksidasyon seviyesinin 290 nm'de absorbans azalışının hesaplaması esasına dayanır (Nakano and Asada 1981). Enzim aktivitesi, 2.90 ml reaksiyon karışımı (50 mM NaH_2PO_4 + 0.5 mM Askorbik asit + 0.1 mM Na_2EDTA + 2 mM H_2O_2) içerisine 100 μl enzim ekstraktı ilave edilmesi ile başlamıştır. Absorbansın 290 nm'deki düşüşü 3 dakika boyunca her bir dakikada kaydedilmiştir. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de askorbatın ekstinksiyon katsayısının ($E = 2.8 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılmasıyla hesaplanmıştır. Sonuçlar EU/mg protein olarak ifade edilmiştir (Mir *et al.* 2015).

3.2.12.e. Glutasyon redüktaz aktivitesi tayini

Glutasyon redüktaz (GR; EC 1.6.4.2.) aktivitesi 340 nm'deki absorbans azalışının dikkate alınmasıyla hesaplanmıştır (Schaedle and Bassham 1977). Substrat olarak 0.25 mM NADPH ve 1 mM oksitlenmiş glutasyon (GSSG) kullanılmıştır. Yükseltgenmiş glutasyonun enzim tarafından indirgenmesi için indirgeyici ajan olarak NADPH kullanılmıştır. Aktivite tayini için 3 ml quartz küvet içerisine, 0.5 mM EDTA içerisinde hazırlanmış 50 mM Tris-HCl (pH 7.8) çözeltisinden 400 µl, 1 mM GSSG çözeltisinden 500 µl, 0.25 mM NADPH çözeltisinden 1000 µl konulmuş ve üzerine 100 µl enzim ekstraktı pipetlenmiştir. NADPH'nin oksidasyonu 340 nm'de 5 dakika boyunca absorbansta meydana gelen azalışın ölçülmesiyle belirlenmiştir. GR aktivitesi belirlemek için NADPH'nin ekstinksiyon katsayısının ($E = 6.2 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$) kullanılmasıyla hesaplanmış ve sonuçlar EU/mg protein olarak ifade edilmiştir (Bartoli *et al.* 1999; Tanaka *et al.* 1999).

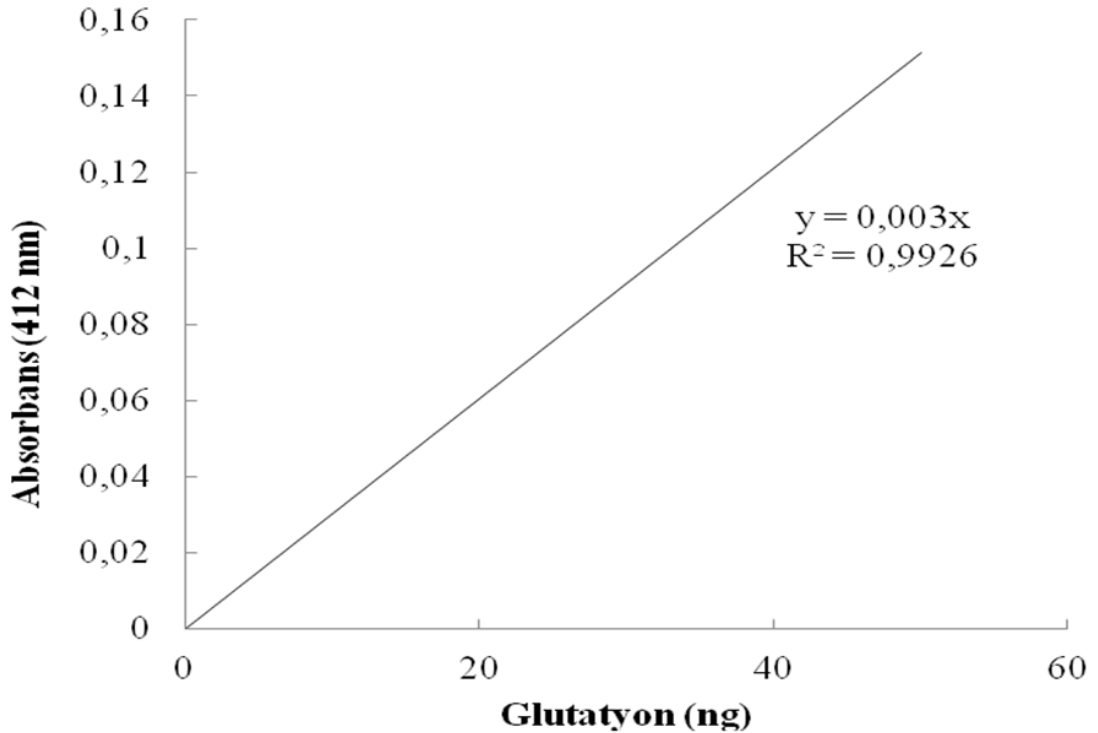
3.2.13. Enzimatik olmayan antioksidanların miktarlarının belirlenmesi

Taze doku örneklerinden 0.25 gr alınıp soğuk bir havan içerisinde sıvı azotla toz haline gelinceye kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra üzerine soğuk TCA (%5) konularak iyice ekstrakte edilmiştir. Örnekler tüplere yerleştirilerek +4°C 9000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı alınarak glutasyon ve askorbik asit miktarları ölçümlerinde kaynak olarak kullanılmıştır.

3.2.13.a. Total glutasyon içeriğinin belirlenmesi

Total Glutasyon (GSH) miktarını belirlemek için 200 mM NaH_2PO_4 (pH: 7.4) tamponundan 160 µl alınmış ve üzerine 20 µl 6 mM ditiobis (DTNB) ilave edilmiştir. Karışım üzerine 20 µl süpernatant konularak 15 dk oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Örneklerin absorbansı 412 nm'de köre karşı okunmuştur (Ellman 1959). Standart grafiği oluşturmak için stok GSH (1µg/µl) çözeltisinden 0, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 µl

alınarak mikrosantrifüj tüplerine aktarılmış ve üzerleri %5'lik TCA çözeltisiyle 100 μ l'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde elde edilen seyreltilmiş GSH çözeltisinden (10 ng/ μ l) tekrar 0, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 μ l alınmış ve üzerleri tekrar %5'lik TCA çözeltisiyle 100 μ l'ye tamamlanmıştır. Elde edilen yeni karışımlardan plaitlere 20 μ l alınarak üzerlerine 160 μ l mM NaH_2PO_4 (pH: 7.4) tamponundan ve 20 μ l 6 mM ditiobis (DTNB) ilave edilmiştir. Karışım 15 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra 412 nm'de ölçüm yapılmıştır. GSH içeriği standart grafikten yararlanılarak gram dokudaki ng cinsinden belirlenmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Glutasyon içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik

3.2.13.b. Askorbik asit (AsA, Total AsA, DHA) içeriğinin belirlenmesi

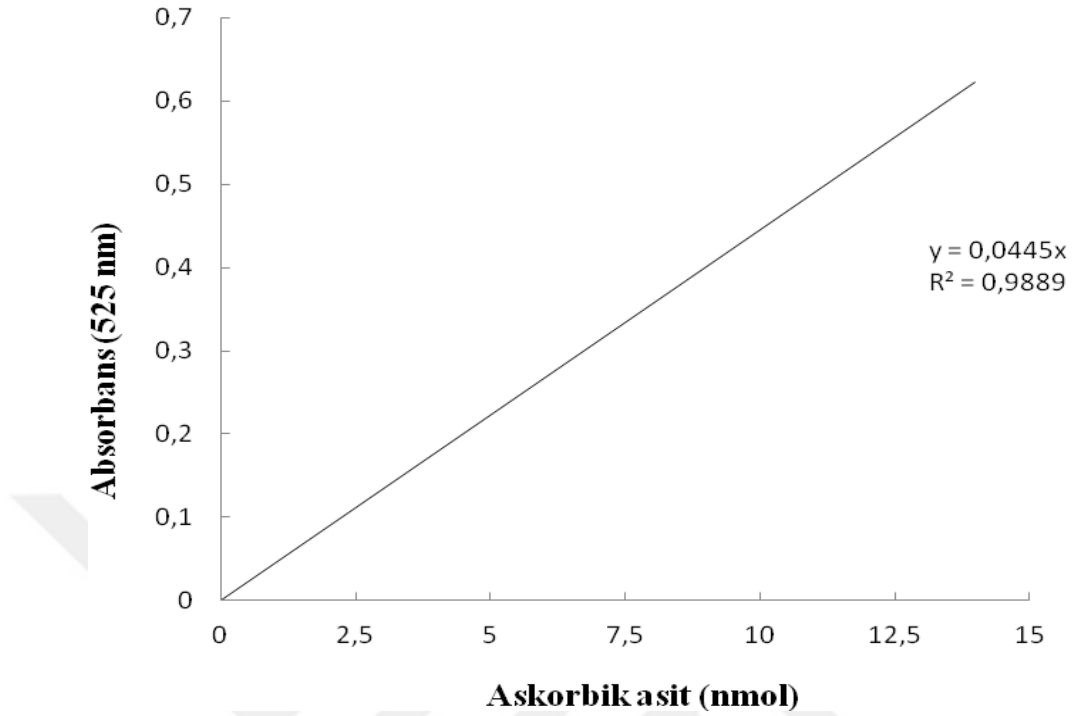
Askorbik asit içeriği Wu *et al.* (2009) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenmiştir. Elde edilen süpernatanttan 400 μ l alınarak üzerine 50 μ l 1.5 M triethanolamine konulmuştur. Daha sonra elde edilen karışım eşit olarak iki ependorf tüpe ayrılmıştır. İndirgenmiş askorbat (AsA) ölçümünde kullanılacak 1. tüpe 200 μ l 150 mM KH_2PO_4 ve

200 µl saf su konularak karıştırılmıştır. Total AsA ölçümünde kullanılacak 2. tüpe ise sırasıyla 150 mM KH_2PO_4 'den 200 µl ve 10 mM DTT'den 100 µl konularak karıştırılmıştır. Bunun üzerine %0.5 N-ethylmalemideden 100 µl konularak iyice karıştırılmıştır.

Daha sonra her iki tüp üzerine sırasıyla %10'luk TCA'dan 400 µl, %44'lük H_3PO_4 'den 400 µl, %4'lük 2,2'-dipyridylden 400 µl konularak vortexlenmiştir. Son olarak tüplere %3'lük FeCl_3 çözeltisinden 150 µl konularak tekrar vortexlenmiştir. Tüpler 37°C 'de 60 dk inkübasyona bırakılmış ve sonra 525 nm'deki absorbanları kaydedilmiştir (Meneguzzo *et al.* 1999). Kör numune olarak her bir grubun homojenat katılmamış örnekleri kullanılmıştır. Total AsA'dan (2. tüp) AsA'nın (1. tüp) çıkarılması bize okside askorbatı (DHA) vermiştir.

$$\text{DHA} = \text{Total AsA} - \text{AsA}$$

Hesaplama amacıyla kullanılacak standart grafiğin oluşturulması için 100 mM askorbik asit çözeltisinden 10 µl alınarak üzerine 990 µl saf su konularak iyice karıştırılmıştır. Daha sonra elde edilen çözeltiden 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 µl alınarak üzerleri saf su ile 100 µl'ye tamamlanmıştır. Bu şekilde 0, 2.5, 5, 7.5, 10, 12.5 ve 15 nmol askorbik asit standart çözeltileri elde edilmiştir. Sonrasında yukarıdaki aktivite ölçümü için geçerli prosedür işlemi aynen uygulanmış ve elde edilen karışımlar önce 37°C 'de 60 dk inkübasyona bırakılmış ve sonra 525 nm'deki absorbanları alınarak standart grafiği oluşturulmuştur (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Askorbik asit içeriğini belirlemede kullanılan standart grafik

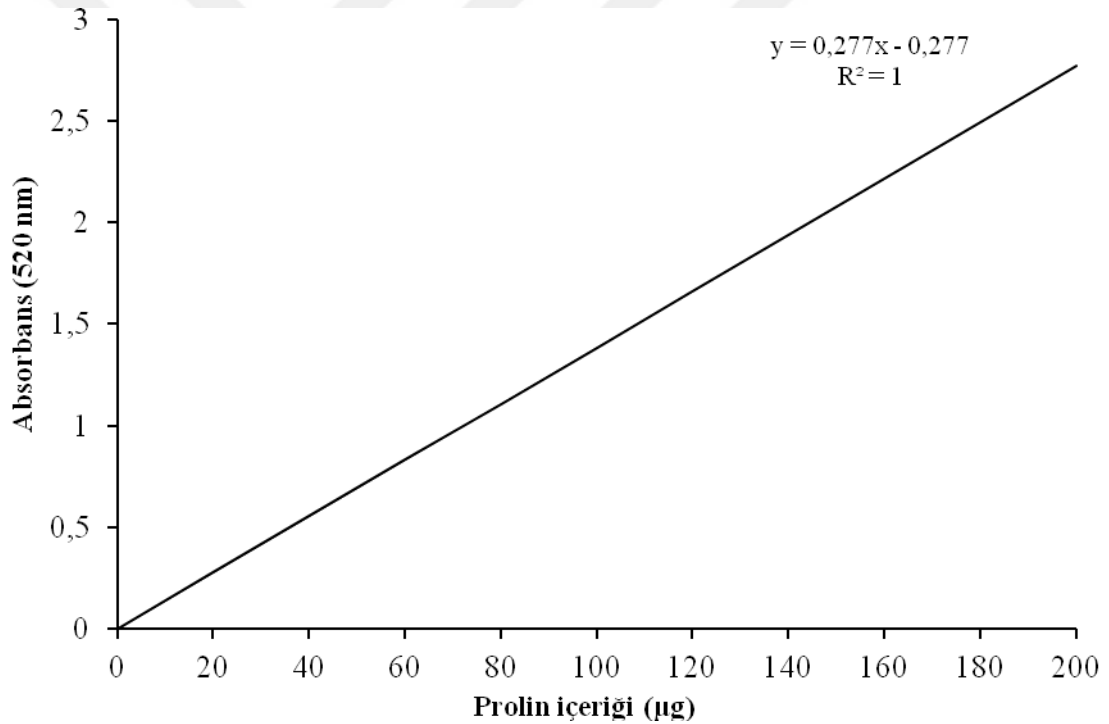
3.2.14. Prolin miktarının belirlenmesi

Yapraklarda prolin miktarının tayini Bates *et al.* (1973) tarafından geliştirilen yöntemle uygun olarak yapılmıştır. Önce 0.5 gr doku örneği, sıvı azotta toz haline getirildikten sonra üzerine 7.5ml %3'lük sülfosalisik asit ilave edilerek homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat tüplere yerleştirilerek 6000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 1 ml glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin konulmuş ve tüpler 100°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda tüpler buz banyosuna alınarak reaksiyon durdurulmuştur. Daha sonra tüplerin üzerlerine 4 ml tolueen ilave edilmiş ve örnekler iyice vortekslenmiştir. Onbeş dakika sonra tüplerde oluşan pembemsi renkli sıvının (üst faz) absorbansı 520 nm'de köre karşı kaydedilmiştir. Köre olarak tolueen kullanılmıştır.

Standart grafik için 10 mg saf prolin 100 ml saf suda çözölmüştür. Hazırlanan bu stok çözöltiden tüplere sırasıyla 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180 ve 200 µl konulmuş

ve tüplerin son hacimleri saf suyla 2 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra tüplere 1 ml glasiyel asetik asit ve 1 ml asit ninhidrin ilave edilmiştir. Tüpler 1 saat 100°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası her bir tüpe 4 ml tolüen ilave edilerek vortekslenmiştir. Bu işlemin ardından beş dakika beklenerek her bir tüpün üst kısmında oluşan pembe fazın absorbansı 520 nm'de ölçülmüştür. Prolin miktarı hazırlanan standart grafikten yararlanılarak μmol prolin/gr taze ağırlık cinsinden hesaplanmıştır (Şekil 3.10). Hesaplamalarda kullanılan formül aşağıdaki gibidir.

$$\mu\text{mol prolin/gr taze ağırlık} = [(\mu\text{g prolin/ml}) \times \text{ml tolüen}] / 115.5 \mu\text{g}/\mu\text{mol} / [(\text{gr örnek})/5]$$



Şekil 3.10. Prolin miktarı hesaplamada kullanılan standart grafik

3.2.15. Total klorofil içeriğinin belirlenmesi

Mısır yapraklarında bulunan klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil miktarlarını belirlemek amacıyla Emmanuel *et al.* (2010) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır. Yaprak kesitleri (0.5 gr) sıvı azotla toz haline getirildikten sonra 10 ml

soğuk aseton (-20°C'de) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen ekstrakt 1000 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatantlar alınarak 450, 645 ve 663 nm'de absorbans değerleri spektrofotometrik olarak okunmuştur. Kör olarak aseton kullanılmıştır. Süpernatantların üç farklı dalga boyunda kaydedilen absorbans değerleri aşağıda verilen eşitliklerde yerine konulmasıyla bitki yaprak dokusunun 1 gr'da bulunan kolrofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktarları mg/doku olarak hesaplanmıştır.

$$\text{mg klorofil a/gr doku} = [(12.7 * (D_{663}) - 2.69 * (D_{645})) * (V/1000 * W)]$$

$$\text{mg klorofil b/gr doku} = [(22.9 * (D_{645}) - 4.68 * (D_{663})) * (V/1000 * W)]$$

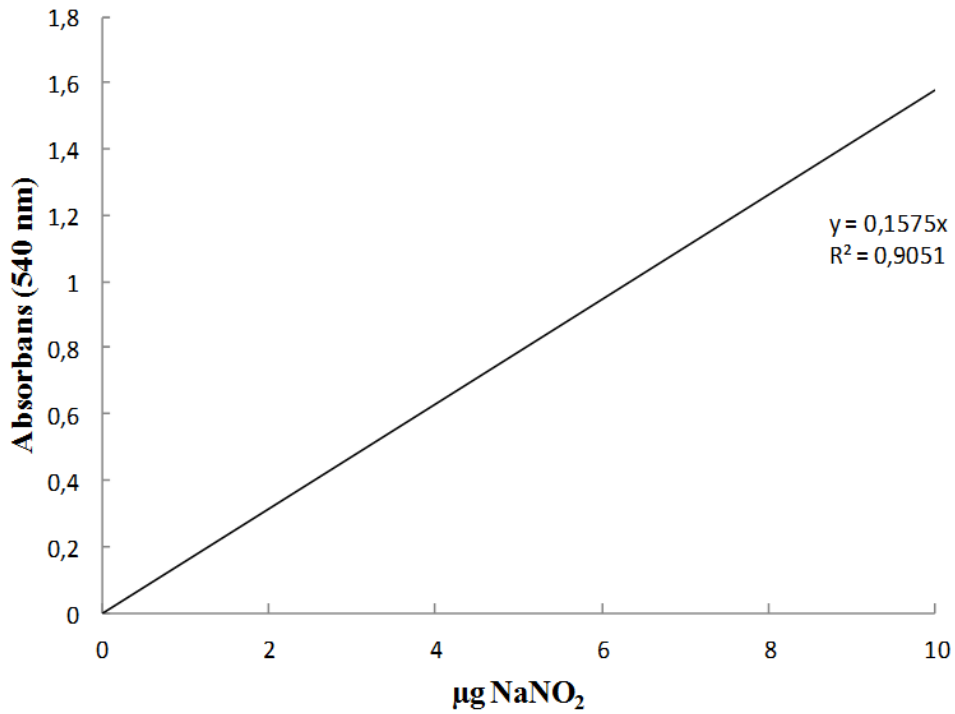
$$\text{mg toplam klorofil/gr doku} = [(20.2 * (D_{645}) + 8.02 * (D_{663})) * (V/1000 * W)]$$

Eşitliklerde: D, klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerini; V, %80'lik asetonun son hacmini; W, ekstre edilen dokunun gram olarak yaş ağırlığını göstermektedir (İsmail 2013).

3.2.16. Nitrat redüktaz enzim aktivitesi tayini

Bitki örneklerinden 0.5 gr doku üzerine sıvı azot ilave edilerek toz haline getirilmiştir. Üzerine 4 katı kadar homojenat tamponu (0.1 M Tris-HCl pH: 7.6, %1 PVP, 7.5 mM sistein, 1 mM Na₂EDTA, %0.5 BSA ve 5 mM Merkaptotanol) konularak homojenizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Homojenat 9000 rpm'de +4°C'de 25 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası reaksiyon tüpüne 0.2 ml homojenat çözeltisi (süpernatant) ve 0.8 ml aktivite tamponu ilave edilip bir su banyosunda (30°C'deki) 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda reaksiyon tüpündeki karışım üzerine 0.1 ml baryum asetat ve 1.9 ml %96'lık etanol ilave edilip karıştırılmış ve +4°C'de 5 dk inkübe edilmiştir. Sonrasında reaksiyon tüpü 4000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 1 ml %1'lik Sülfanilamid ve 1 ml %0.02'lik N-1-Naftiletilediamnidihiidroklörür (NED) çözeltileri ilave edilip bu karışım 8-12 saat bekletilmiştir. Süre sonunda oluşan pembe renkli çözelti karışımı 540 nm'de köre karşı okunmuştur (Barro *et al.* 1991). Nitrat redüktaz aktivitesi bitkide gece ve gündüz peryotlarından etkilendiği için tüm işlemler gündüz aynı zamanlarda yapılmıştır. Hesaplamalar için kullanılacak standart grafiğin oluşturulması amacıyla 50 µM NaNO₂

çözeltisinden 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 ml alınarak üzerleri saf su ile 10 ml'ye tamamlanmıştır. Elde edilen karışımlardan 1 ml alınarak üzerlerine 1 ml %1'lik Sülfanilamid ve 1 ml %0.02'lik N-1-Naftiletildiamnidihidroklorür (NED) çözeltileri ilave edilmiştir. Karışımlar 15 dk beklenildikten sonra oluşan pembe renkli çözeltilerin 540 nm'de absorbansları alınmıştır. Absorbans değerlerine karşılık gelen $\mu\text{g NaNO}_2$ değerleri kullanılarak standart grafik oluşturulmuştur. (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Nitrat redüktaz miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

3.2.17. SDS-poliakrilamid jel elektroforezi

Bu çalışmada yapraklarda çözülebilir polipeptidlerin kantitatif analizi SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Laemmli 1970). Çalışmada mini elektroforez sisteminde %4'lük yığma jeli ve %12'lik ayırma jeli olan kesikli jel sistemi kullanılmıştır. Yığma jeli, 3.4 ml saf su, 830 μl %30'luk Bis-Akrilamid, 630 μl 1 M'lık Tris-HCl (pH: 6.8), 50 μl %10'luk SDS, 5 μl TEMED ve 50 μl APS (Amonyum persulfat) bileşiklerinden oluşmaktadır. Ayırma jeli ise 2.61 ml saf su, 3.2 ml %30'luk BisAkrilamid, 2.03 ml 1 M'lık Tris-HCl (pH: 8.8), 80 μl %10'luk

SDS, 4 µl TEMED ve 80 µl APS bileşiklerinde oluşmaktadır. Her iki jel hazırlanırken en son APS katılmış ve hafifçe karıştırıldıktan sonra cam plakalar arasına yüklenilmiştir. İşlemde başta elektroforez camları olmak üzere tüm ekipman önce saf su, sonra alkol ile iyice yıkanmıştır. İki cam plaka aralarında boşluk kalacak şekilde birleştirilip ve kısıkaçlarla tutturularak jel hazırlama aparatına (Biorad) yerleştirilmiştir. Ayırma jeli, plakalar arasına ince uçlu otomatik pipet vasıtasıyla yavaş yavaş ilave edilmiştir. Jel yüzeyinin pürüzsüz olması için izopropil alkol ile ince bir tabaka oluşturulmuştur. Jel polimerleştikten sonra yüzeydeki alkol uzaklaştırılmıştır. Yığma jeli üst yüzeye kadar doldurulmuş ve taraklar yerleştirilmiştir. Yaklaşık 45 dakika sonra tarak dikkatlice çıkarılmış ve cam plakalar elektroforez tankına yerleştirilmiştir. Elektroforez tankının alt ve üst kısmına yürütme tamponu konulmuştur. Numuneler her bir örnek için 40 µg protein/20 µl olacak şekilde fosfat tamponu içinde (0.1 M KH_2PO_4 , pH: 7.0) hazırlanmıştır. Polipeptidlerin moleküler ağırlıklarını belirlemek için aynı şartlarda hazırlanan standart proteinler kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan örnekler üzerine 20 µl numune tamponu ilave edildikten sonra vortexlenmiş ve kaynar su banyosunda 5 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası soğutulan numuneler bir enjektör yardımıyla (50 µl'lik Hamilton iğnesi ile) kuyucuklara tatbik edilmiştir. Tank içerisine yeteri kadar yürütme tamponu konulmuş ve kapağı kapatılarak gerekli elektrik bağlantıları yapılmıştır. Yığma jeline 80 volt 32 A akım tatbik edilmiş, numuneler ayırma jeline geçtiğinde ise akım 120 volt 64 A ayarlanmış ve 2-4 saat oda sıcaklığında yürütme gerçekleştirilmiştir. Yürütme işlemi bitince akım kesilmiş ve cam plakalar arasındaki jel dikkatlice çıkarılmıştır. Elde edilen jel bir kaba alınmış ve üzerine fixing çözeltisi ilave edilerek 30 dk hafifçe çalkalanmıştır. Fixing çözeltisi uzaklaştırıldıktan sonra jel en az 2 saat boyama çözeltisinde tutulmuştur. İyice boyanan jeller, yıkama çözeltisiyle şeffaflaşınca ve polipeptid bantları belirginleşinceye kadar yıkanmıştır. Son olarak fotoğrafları çekilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Çalışılan Halofit Bitkiler

Bu çalışmada 2012-2013 yıllarının Haziran ayında Tuz Gölü çevresindeki 6 farklı istasyonda doğal yayılış gösteren 17 halofit bitki kullanılmıştır. Toplanan bitkilerin teşhisleri, Türkçe adları, toplandıkları lokasyon ile ilgili bilgiler Çizelge 4.1’de ve bitkilerin doğal ortamda alınan fotoğrafları Şekil 4.1’de sunulmuştur. Bitkiler içerisinde *Puccinellia convoluta* monokotil, diğerleri ise dikotil bitkilerdir. Toplanan bitki örnekleri Asteraceae, Chenopodiaceae, Brassicaceae, Fabaceae, Caryophyllaceae, Poaceae, Apiaceae, Ranunculaceae, Zygophyllaceae, Santalaceae familyalarına aittir.

Çizelge 4.1. Bakterilerin izole edildiği halofit bitkiler ve habitatları (EN: endemik)

Bilimsel Adı	Türkçe Adı	Habitat	Toplandığı İstasyon
<i>Inula aucheriana</i>	Çorak Andız Otu	Nemli, tuzlu alan	1
<i>Petrosimonia nigdeensis</i>	Kuruacı (EN)	Tuzlu step	5
<i>Salicornia europaea</i>	Deniz börülcesi	Tuzlu bataklık arazi	1
<i>Lepidium perfoliatum</i> L.	Gübreotu	Tuzlu step	4
<i>Hedysarum varium</i>	Batalak	Bozkır	2
<i>Silene salsuginea</i>	Çorak Nakıllı (EN)	Tuzlu step	2
<i>Puccinellia convoluta</i>	Tuz Çimi	Tuzlu bataklıklar	4
<i>Matricaria chamomilla</i>	Alman Papatyası	Yol kenarı, boş alan	3
<i>Halocnemum strobilaceum</i>	Çuvan	Tuzlu göl kıyıları	1
<i>Falcaria falcarioides</i>	Has Orakotu	Tuzlu bataklıklar	5
<i>Pandertia pilosa</i>	-----	Tuzlu bataklıklar	6
<i>Consolida hellespontica</i>	Süvari Mahmuzu	Tarla	6
<i>Peganum harmala</i>	Üzerlik	Tuzlu step	3
<i>Achillea sieheana</i>	Develi Perçemi (EN)	Tuzlu step	2
<i>Thesium compressum</i>	Tuz Güveleği	Tuzlu step	3
<i>Brassica elongata</i>	Uzun Şalgam	Kurak kayalık	2
<i>Sphaerophysa kotschyana</i>	Hürmüzotu (EN)	Tuzlu bataklık	3



Inula aucheriana



Petrosimonia nigdeensis



Salicornia europaea



Lepidium perfoliatum L.



Hedysarum varium



Silene salsuginea



Puccinellia convoluta



Matricaria chamomilla



Halocnemum strobilaceum



Panderia pilosa

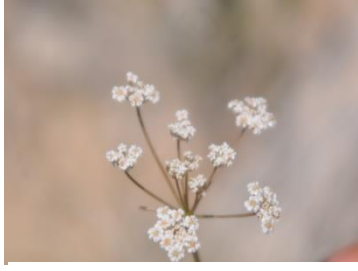


Consolida hellespontica



Peganum harmala

Şekil 4.1. Tuz Gölü'nde toplanan halofit bitkiler



Falcaria falcarioides



Achillea sieheana



Thesium compressum



Brassica elongata



Sphaerophysa kotschyana

Şekil 4.1. (Devam)

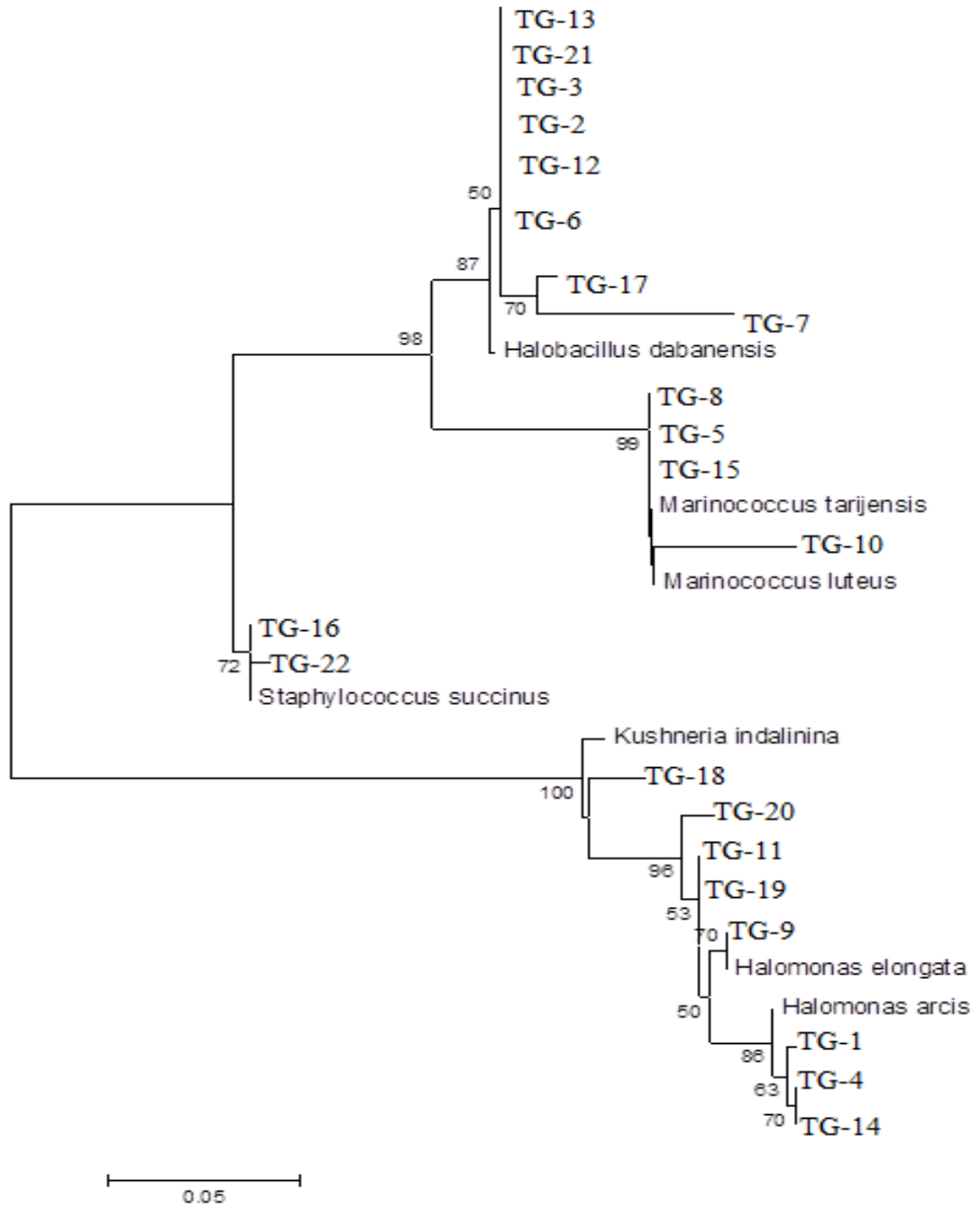
4.2. İzole Edilen Halofil Bakteriler

Çalışmada kullanılan halofit bitkilerin kök rizosferinden *Halomonas arcis* (3 izolat), *Halobacillus dabanensis* (8 izolat), *Marinococcus tarijensis* (3 izolat), *Kushneria indalinina* (4 izolat), *Marinococcus luteus* (1 izolat), *Halomonas elongata* (1 izolat), *Staphylococcus succinus* (2 izolat) bakteri türlerine ait 22 izolat elde edilmiştir. Bu bakterilerin teşhisleri ve hangi bitkilerden izole edildikleri ile ilgili bilgiler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Ayrıca 16S rRNA dizi analizi tekniğine göre tanısı yapılan izolatların filogenetik ağaçlandırılması Şekil 4.2’de verilmiştir. Petri denemeleriyle yapılan ön çalışmalara göre, bitki büyüme parametrelerine en iyi etki eden 4 izolat TG-4 (*Halomonas arcis*), TG-8 (*Marinococcus tarijensis*), TG-12 (*Halobacillus dabanensis*) ve TG-20 (*Kushneria indalinina*) olarak belirlenmiş ve araştırmadaki esas çalışmalar bu izolatlar ile yürütülmüştür. Çalışılan bu 4 izolatın halofil besiyeri yanında, mısır bitkisine uygulanan tuzlu koşullarda da (75, 150 ve 250 mM NaCl) iyi gelişebildikleri

belirlenmiştir. Bu nedenle kullanılan izolatların halotolerant bakteriler olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.2. Halofit bitkilerden izole edilen halofil bakteriler ve izolat numaraları

Bakteri	İzolat No	İzole Edildiği Bitki
<i>Halomonas arcis</i>	TG-1	<i>Inula aucheriana</i>
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-2	<i>Petrosimonia nigdeensis</i>
	TG-3	
<i>Halomonas arcis</i>	TG-4	<i>Salicornia europaea</i>
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-5	<i>Lepidium perfoliatum</i> L.
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-6	<i>Hedysarum varium</i>
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-7	<i>Silene salsuginea</i>
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-8	<i>Falcaria falcarioides</i>
<i>Halomonas elongata</i>	TG-9	<i>Halocnemum strobilaceum</i>
<i>Marinococcus luteus</i>	TG-10	<i>Matricaria chamomilla</i>
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-11	<i>Halocnemum strobilaceum</i>
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-12	<i>Thesium compressum</i>
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-13	<i>Consolida hellespontica</i>
<i>Halomonas arcis</i>	TG-14	<i>Pandera pilosa</i>
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-15	
<i>Staphylococcus succinus</i>	TG-16	<i>Peganum harmala</i>
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-17	<i>Achillea sieheana</i>
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-18	<i>Sphaerophysa kotschyana</i>
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-19	<i>Puccinellia convoluta</i>
	TG-20	
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-21	<i>Brassica elongata</i>
<i>Staphylococcus succinus</i>	TG-22	



Şekil 4.2. Teşhisi yapılan izolatların filogenetik ilişkileri

Çalışmada, ayrıca her bir bakterinin ACC deaminaz sentezleme, azot fiksasyon yetenekleri ve Gram özellikleri Çizelge 4.3’de sunulmuştur. TG-4, TG-9 ve TG-19 izolatları hariç diğer tüm izolatların ACC deaminaz için pozitif olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.3’te de görüldüğü gibi tezdeki esas çalışmalarda kullanılan izolatlardan TG-

4'ün negatif; TG-8, TG-12 ve TG-20'nin ise ACC deaminaz için pozitif olduğu görülmektedir. İzole edilen bakteriler azot fiksasyonu bakımından değerlendirildiğinde, TG-8, TG-11, TG-19 izolatlarının negatif, diğer izolatların ise pozitif olduğu belirlenmiştir. Esas çalışmalarımızda kullanılan TG 4, TG-12 ve TG-20 kodlu izolatların azot fiksasyonu yapabilen bakteriler olduğu görülürken, TG-8'in ise negatif olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3. Bakteri izolatları ve bazı fizyolojik özellikleri

16S rRNA Sonuçlarına Göre Bakteriler	İzolat No	ACC Deaminaz aktivitesi	Azot fiksasyonu	Gram özellği
<i>Halomonas arcis</i>	TG-1	+	+	-
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-2	+	+	+
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-3	+	+	+
<i>Halomonas arcis</i>	TG-4	-	+	-
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-5	+	+	+
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-6	+	+	+
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-7	+	+	+
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-8	+	-	+
<i>Halomonas elongata</i>	TG-9	-	+	-
<i>Marinococcus luteus</i>	TG-10	+	+	+
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-11	+	-	-
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-12	+	+	+
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-13	+	+	+
<i>Halomonas arcis</i>	TG-14	+	+	-
<i>Marinococcus tarijensis</i>	TG-15	+	+	+
<i>Staphylococcus succinus</i>	TG-16	+	+	+
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-17	+	+	+
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-18	+	+	-
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-19	-	-	-
<i>Kushneria indalinina</i>	TG-20	+	+	-
<i>Halobacillus dabanensis</i>	TG-21	+	+	+
<i>Staphylococcus succinus</i>	TG-22	+	+	+

Çalışmadan elde edilen bulgular çizelgelerle ayrıntılı olarak gösterilmiş ve farklılıkların daha iyi anlaşılabilmesi amacıyla grafiklerle de desteklenmiştir. Her bir grup öncelikle kendi kontrolü ile değerlendirilmiş, ayrıca gruplar arasında da (kontrolleri ile) karşılaştırılarak bakteri uygulamasının tuz stresine cevapta oynadığı rol istatistiksel olarak açıklanmaya çalışılmıştır.

4.3. Kök ve Gövde Uzunluğuna Ait Bulgular

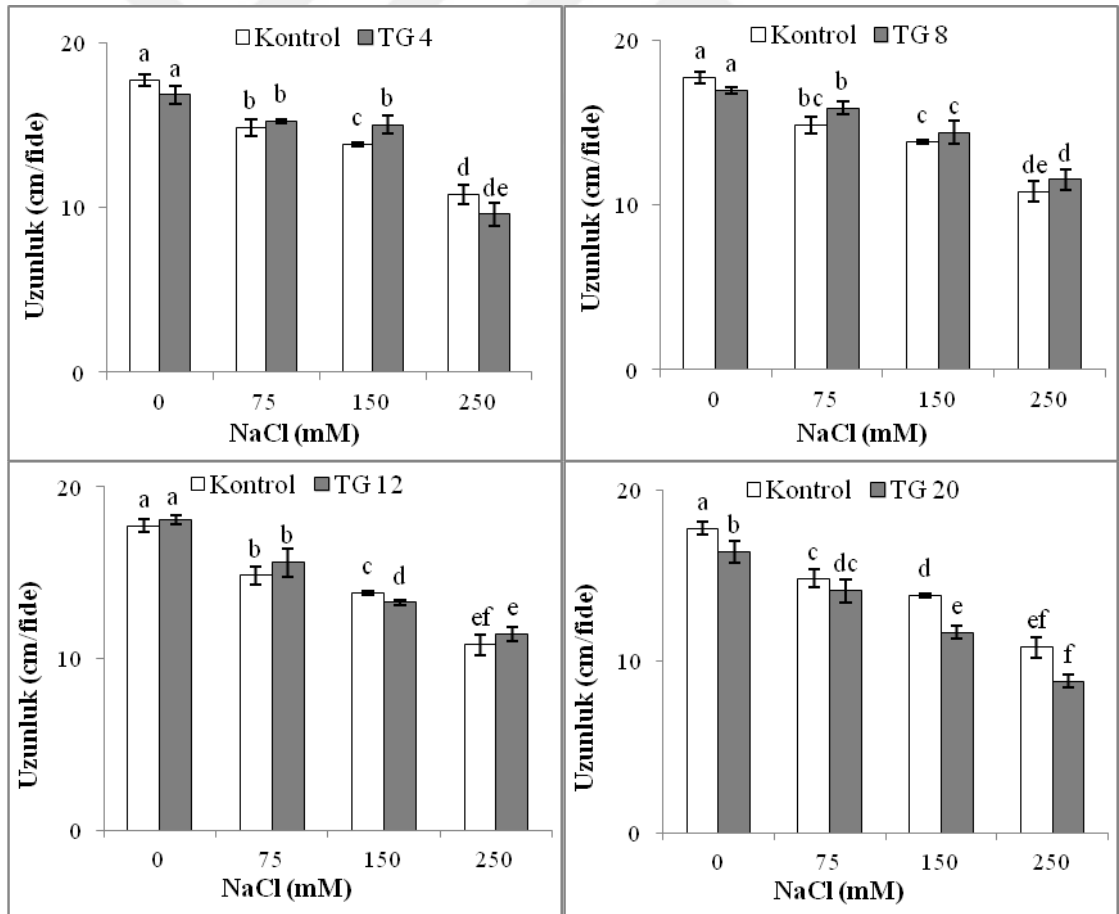
Çimlenme öncesi mısır bitkisinin tohumlarına bakteri uygulaması, kök uzunlukları (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3) ve gövde uzunlukları (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4) üzerinde önemli farklılıklara neden olmuştur. Tek başına tuz (75, 150, 250 mM NaCl) uygulamaları kontrol (0.0 mM) ile kıyaslandığında, artan tuz miktarına bağlı olarak kök uzunluğunda önemli ($p<0.05$) lineer bir azalışa neden olmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları TG-20 izolatı haricinde kök uzunlukları üzerinde istatistiki olarak önemli olmayan değişimlere neden olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında ise TG-8, 75 ve 250 mM tuzda, TG-4 ise 150 mM tuz koşullarında, aynı tuz oranlarındaki kontrole göre, kök uzunluğu üzerinde olumlu etki yapmış ve bu etkiler sırasıyla %7 ve %9 oranında olmuştur. TG-4 250 mM tuzda önemli ($p>0.05$) bir artış sağlayamamıştır. Diğer izolatlardan TG-12, 250 mM tuz uygulamasında kontrole göre %6'lık bir artış sağlarken, TG-20 ise tüm tuz konsantrasyonlarında kontrollerine kıyasla kök uzunluğu üzerinde olumsuz etki yapmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3).

Sonuçlar gövde uzunluğu bakımından değerlendirildiğinde, tek başına tuz uygulamalarından özellikle 150 ve 250 mM tuz uygulamaları önemli ($p<0.05$) bir azalışa neden olmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları TG-4 ve TG-8 izolatlarında gövde uzunlukları üzerinde istatistiki olarak önemli ($p<0.05$) artışlara neden olmuşken, TG-12 ve TG-20 izolatlarında ise önemli olmayan bir artış gerçekleştirmiştir. Bakteri+tuz uygulamalarında ise TG-4 ve TG-12 izolatları gövde uzunluğunda, kontrole göre, 150 mM tuz uygulamasında %12'lik bir artış göstermiştir. TG-8 ve TG-20 izolatları kontrole göre 150 mM tuzda olumlu etki göstererek %7 oranında artış sağlamıştır (Çizelge 4.5. ve Şekil 4.4).

Çizelge 4.4. Kök uzunluğu (cm/fide) sonuçları

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	17.73±0.37	14.83±0.54	13.82±0.10	10.81±0.60
TG-4	16.83±0.54	15.23±0.15	15.02±0.56	9.58±0.72
TG-8	16.93±0.20	15.86±0.38	14.40±0.72	11.53±0.64
TG-12	18.06±0.26	15.60±0.81	13.26±0.13	11.43±0.44
TG-20	16.36±0.63	14.10±0.67	11.66±0.38	8.83±0.38

*± standart hatayı ifade eder



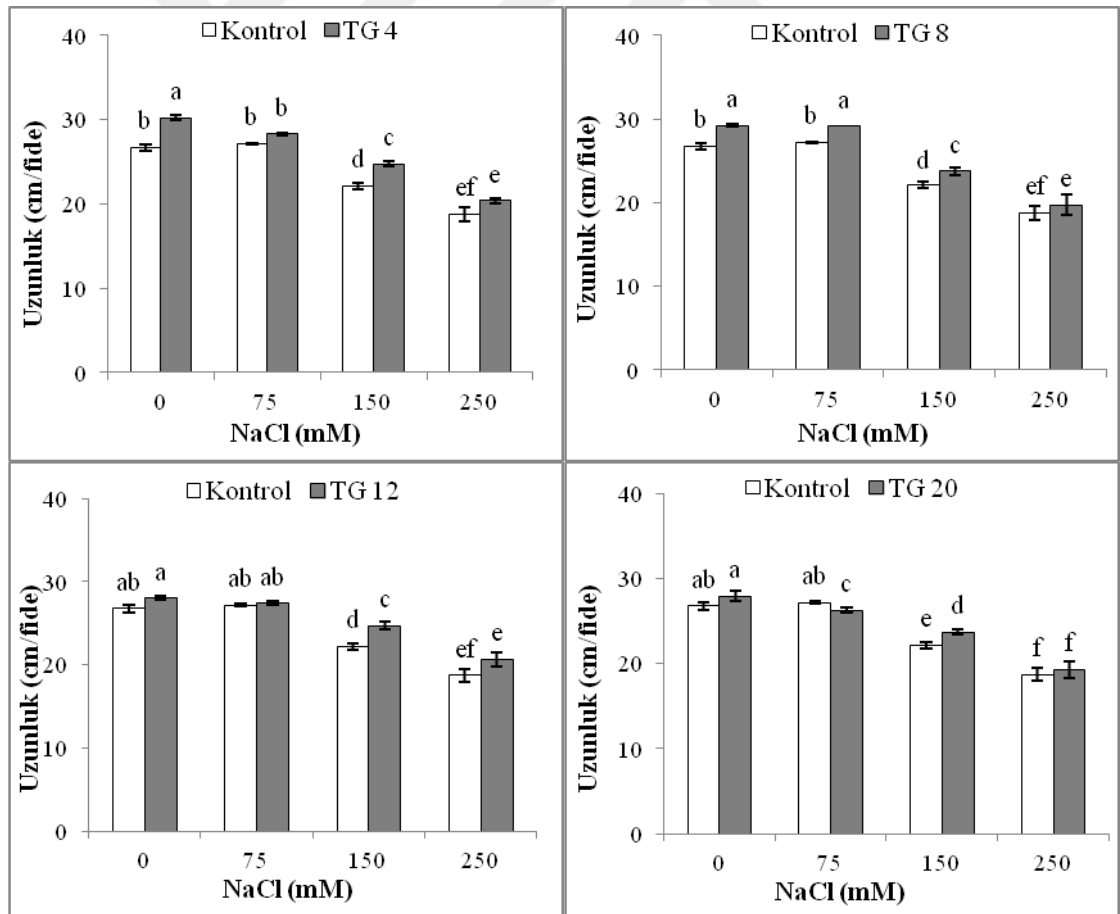
Şekil 4.3. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kök uzunluğuna etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

Çizelge 4.5. Gövde uzunluğu (cm/fide) sonuçları

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	26.74±0.79	27.16±0.24	22.15±0.80	18.72±1.64
TG-4	30.24±0.56	28.30±0.36	24.77±0.57	20.37±0.55
TG-8	29.23±0.28	29.13±0.09	23.76±1.01	19.73±2.36
TG-12	28.00±0.50	27.37±0.48	24.70±0.90	20.66±1.77
TG-20	27.93±1.26	26.26±0.65	23.70±0.56	19.30±1.97

*± standart hatayı ifade eder.



Şekil 4.4. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının gövde uzunluğuna etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

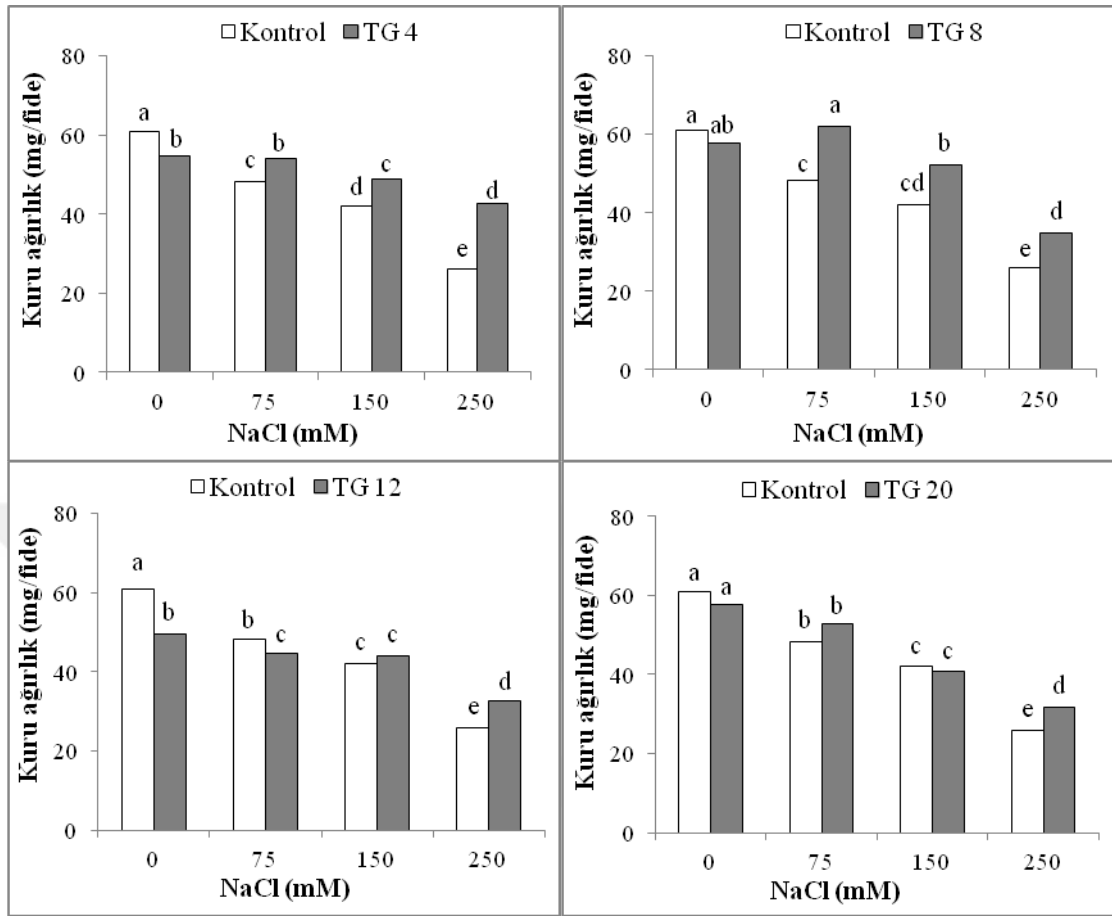
4.4. Kök ve Gövde Kuru Ağırlığına Ait Bulgular

Kök ve gövde kuru ağırlıkları, hem tuz hem de bakteri+tuz uygulamaları açısından değerlendirildiğinde genel olarak istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre kök kuru ağırlığında önemli bir düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Tuz uygulamaları (75, 150 ve 250 mM) kontrole göre kök kuru ağırlıkları sırasıyla %21, %31 ve %57 oranlarında düşürmüştür. Tek başına bakteri uygulamaları ise kök kuru ağırlık üzerinde azalışlara neden olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında düşük konsantrasyonda (75 mM), en iyi sonucu kontrole göre %28 oranında artış gösteren TG-8 vermiştir. TG-4 ve TG-20 75 mM tuzda kontrole göre kök kuru ağırlığını artırmışken TG-12 ise düşüşe neden olmuştur. TG-4, TG-8 ve TG-12 izolatları 150 ve 250 mM tuzda kontrollerine göre kök kuru ağırlıklarında artış göstermiştir. TG-20 150 mM tuzda azalış göstermişken 250 mM tuzda ise artış göstermiştir. Özellikle yüksek tuz uygulamasında (250 mM) tüm bakteri uygulamaları kontrollerine göre kök kuru ağırlığında artışa neden olmuştur (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.6. Kök kuru ağırlık (mg/fide) sonuçları

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	0.061±0.003	0.048±0.001	0.042±0.003	0.026±0.002
TG-4	0.055±0.001	0.054±0.001	0.049±0.002	0.043±0.001
TG-8	0.058±0.001	0.062±0.002	0.052±0.001	0.035±0.001
TG-12	0.050±0.002	0.045±0.002	0.044±0.001	0.033±0.001
TG-20	0.058±0.001	0.053±0.001	0.041±0.002	0.032±0.004

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.5. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kök kuru ağırlığı üzerine etkisi

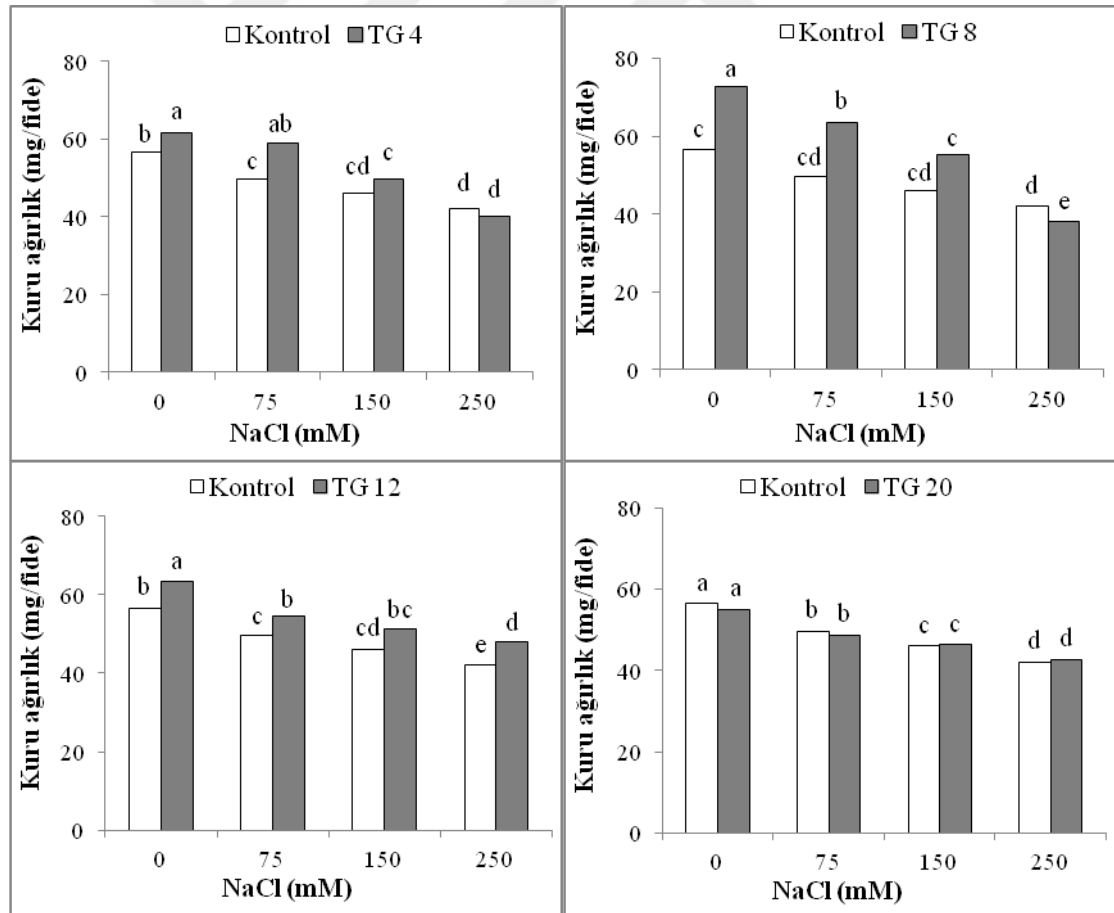
*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

Gövde kuru ağırlıkları değerlendirildiğinde, tek başına tuz uygulamaları kontrole göre (0.0 mM) gövde kuru ağırlığında istatistiki açıdan önemli azalmaya neden olmuştur ($p < 0.05$). Tek başına bakteri uygulamaları ise TG-20 dışında kuru ağırlık üzerinde istatistiki olarak artışlara neden olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında özellikle 150 mM tuz şartlarında tüm bakteri uygulamaları kontrole göre gövde kuru ağırlığında artış göstermişlerdir. Ayrıca 75 mM tuzda TG-20, 250 mM tuzda ise TG-4 ve TG-8 izolatu dışındaki tüm uygulamalarda kontrole göre gövde kuru ağırlığında artış görülmüştür (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.6).

Çizelge 4.7. Gövde kuru ağırlık (mg/fide) sonuçları

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	0.057±0.000	0.050±0.001	0.046±0.001	0.042±0.000
TG-4	0.062±0.000	0.059±0.001	0.050±0.001	0.040±0.001
TG-8	0.073±0.002	0.064±0.001	0.055±0.002	0.038±0.001
TG-12	0.063±0.001	0.055±0.001	0.051±0.003	0.048±0.001
TG-20	0.055±0.001	0.049±0.001	0.046±0.001	0.043±0.002

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.6. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının gövde kuru ağırlığı üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

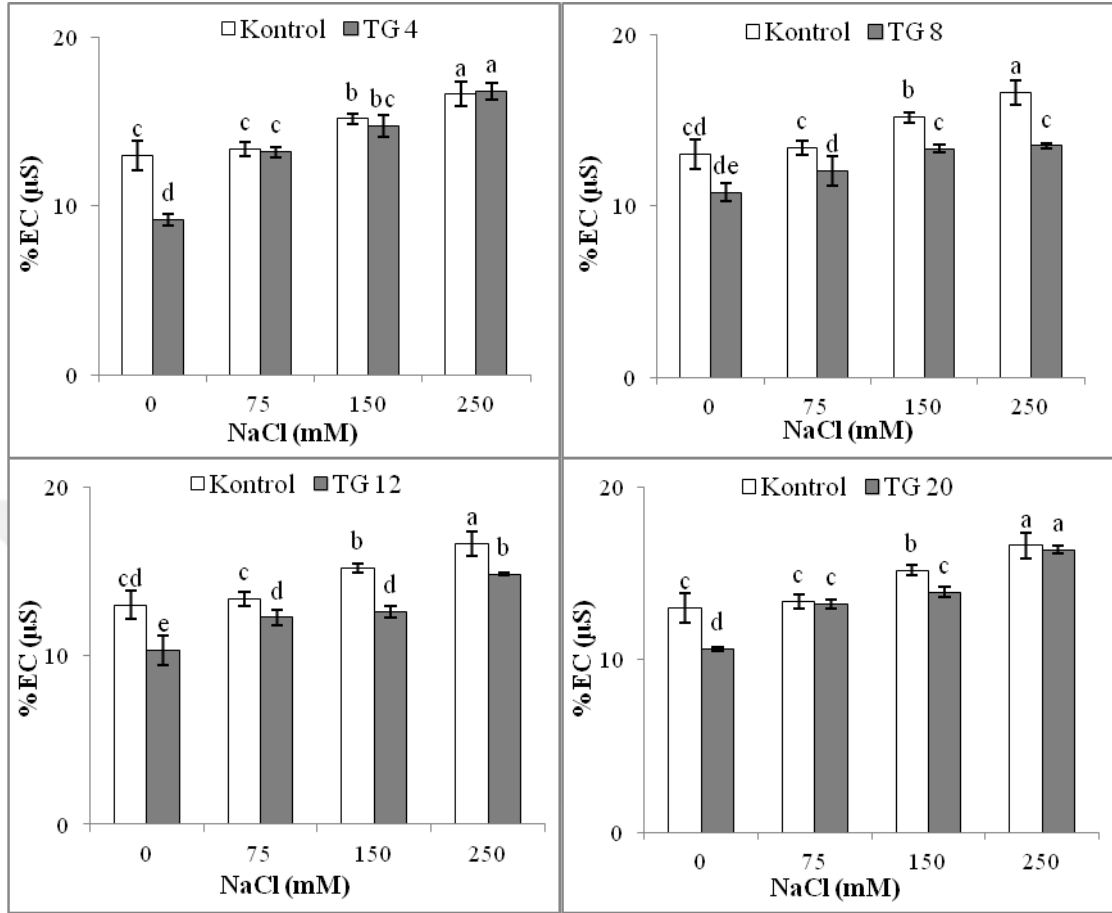
4.5. Membran Hasarı Sonuçları

Tek başına tuz uygulamaları, kontrol ile kıyaslandığında, artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak membran hasarı (EC=Elektriksel iletkenlik) değerlerinde istatistiki olarak önemli artışlar göstermiştir ($p<0.05$). Tek başına bakteri uygulamalarında tüm izolatlar EC değerini önemli derecede düşürmüştür ($p<0.05$). Bakteri+tuz uygulamalarında 250 mM tuz uygulanmış TG-4 izolatında kontrole göre önemsiz bir artış olmuş, diğer tüm uygulamalarda ise EC değerlerinde azalışlar meydana gelmiştir. Özellikle TG-8 izolatı tüm tuz uygulamalarında kontrole göre en iyi sonuçları vermiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7).

Çizelge 4.8. Elektriksel iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) sonuçları

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	11.98 $\pm$ 0.86	13.36 $\pm$ 0.40	15.15 $\pm$ 0.28	16.60 $\pm$ 0.72
TG-4	9.18 $\pm$ 0.34	13.19 $\pm$ 0.29	14.71 $\pm$ 1.00	16.78 $\pm$ 0.50
TG-8	10.76 $\pm$ 0.52	12.02 $\pm$ 0.87	13.31 $\pm$ 0.22	13.50 $\pm$ 0.17
TG-12	10.28 $\pm$ 0.86	12.25 $\pm$ 0.44	12.60 $\pm$ 0.33	14.82 $\pm$ 0.10
TG-20	10.62 $\pm$ 0.13	13.21 $\pm$ 0.24	13.91 $\pm$ 0.29	16.34 $\pm$ 0.23

* $\pm$ standart hatayı ifade eder



Şekil 4.7. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının EC üzerine etkileri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.6. Mineral İçeriği Sonuçları

Yapılan çalışmalarda bitki örneklerinin kök ve yapraklarda Na^+ , K^+ , ve Ca^{+2} içerikleri istatistiki olarak önemli ($p < 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.9, 4.10 ve Şekil 4.8, 4.9). Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre Na^+ içeriğini hem kökte hem de yaprakta artırmıştır. Bu artışlar yapraklarda düşük tuzdan yüksek tuza göre sırasıyla %3, %17 ve %21 oranında olmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları ise yapraklarda Na^+ içeriğinde önemli düşüşlere neden olurken, köklerde aksine TG-20 izolatu hariç artırmışlardır. Yapraklarda düşüş oranları TG-4, 8, 12, 20 izolatlarında sırasıyla %1, %50, %33 ve %33 oranında olmuştur. Köklerde artış oranları ise TG-4, 8, 12 izolatlarında sırasıyla %13, %15, %25 olurken, TG-20 izolatu %5 oranında düşürmüştür. Bakteri+tuz

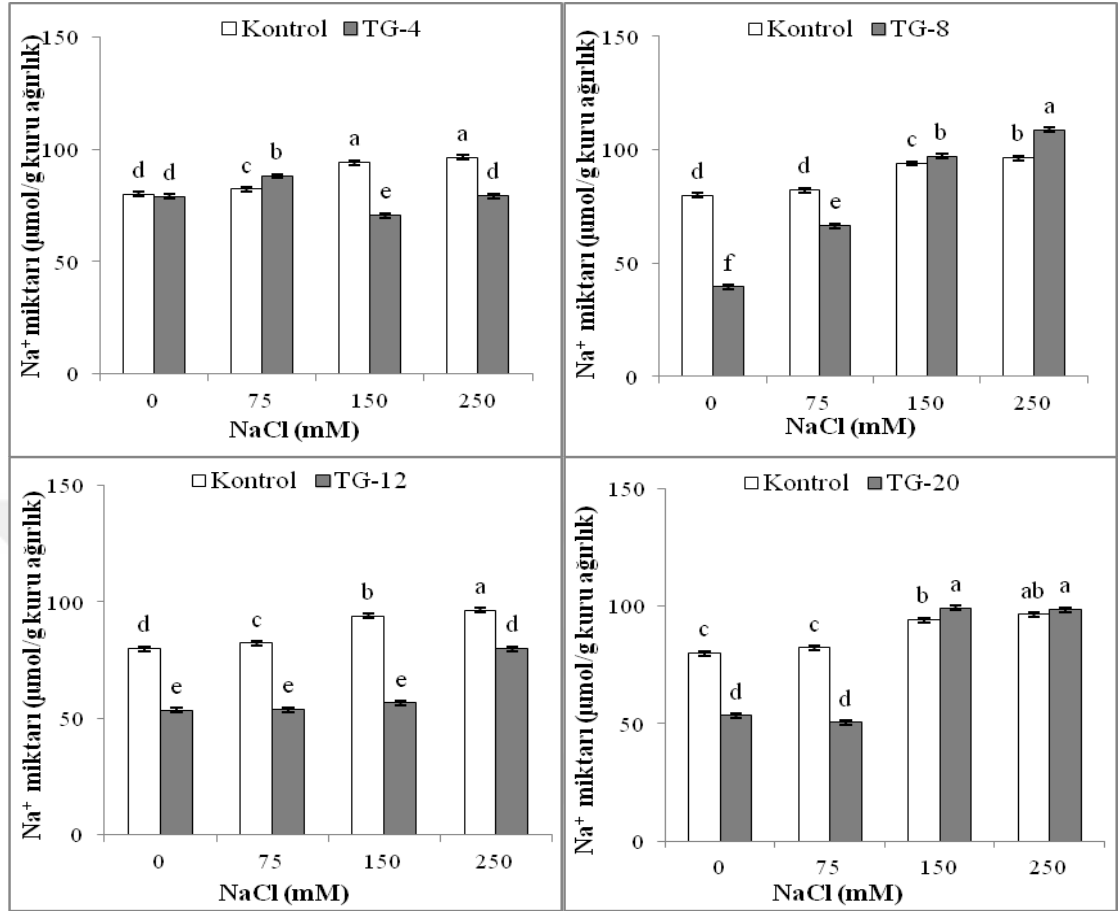
koşullarında TG-4 izolatu hem yaprakta hem de kökte Na içeriğini genelde düşürmüştür. Örneğin TG-4, 250 mM tuz şartlarında kök ve yaprakta Na⁺ içeriğini kontrole göre sırasıyla %18 ve %12 oranında azaltmıştır. TG-8 izolatu ise köklerde belirgin bir Na⁺ düşüşüne neden olurken, yapraklarda düzenli bir azalış veya artış gösterememiştir. Bu izolat köklerde Na⁺ içeriğini artan tuz konsantrasyonlarına göre sırasıyla %8, %11 ve %28 oranında düşürmüştür.

TG-12 izolatu tüm tuz konsantrasyonlarında Na⁺ içeriğini kontrolle karşılaştırıldığında yaprakta azaltırken, kökte artırmıştır. Yapraklardaki düşüşler artan tuz konsantrasyonlarına göre sırasıyla %8, %11 ve %28 oranında belirlenmiştir. TG-20 izolatu 75 mM tuz uygulamasında kontrole göre azalış gösterirken, diğer tuz konsantrasyonlarında fazla ($p>0.05$) etkili olmamıştır (Çizelge 4.9, 4.10 ve Şekil 4.8, 4.9)

Çizelge 4.9. Yaprakta Na⁺ iyonu miktarları (μmol/g kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	79.90±0.05	82.20±0.11	94.00±0.05	96.40±0.05
TG-4	79.03±0.05	88.00±0.05	70.50±0.00	79.20±0.00
TG-8	39.60±0.01	66.50±0.01	97.10±0.01	108.80±0.01
TG-12	53.50±0.01	53.70±0.01	56.60±0.00	79.90±0.00
TG-20	53.40±0.01	50.40±0.01	99.20±0.01	98.40±0.01

*± standart hatayı ifade eder



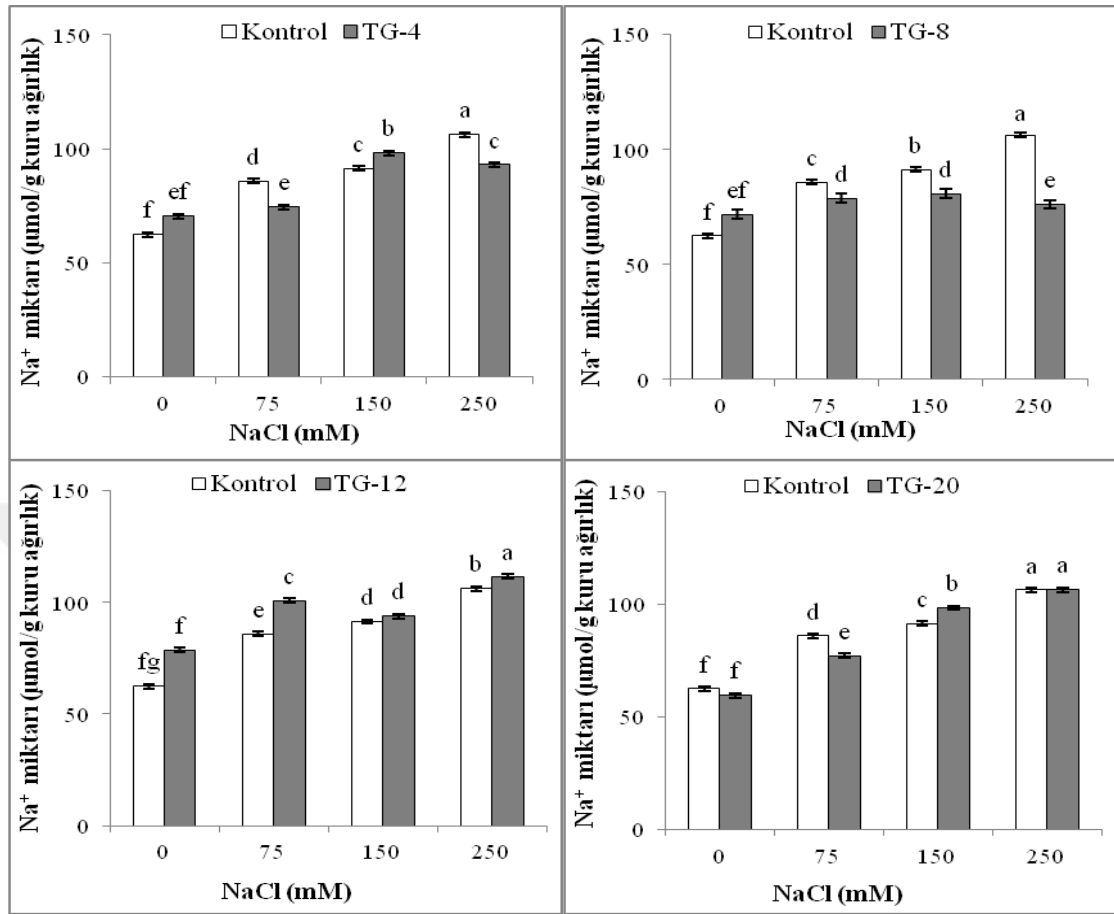
Şekil 4.8. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta Na⁺ iyon miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.10. Kökte Na⁺ iyonu miktarları (µmol/g kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	62.50±0.05	85.90±0.05	91.40±0.05	106.30±0.05
TG-4	70.50±0.01	74.60±0.05	98.20±0.01	93.10±0.01
TG-8	71.90±0.01	78.80±0.01	80.90±0.01	76.20±0.01
TG-12	78.60±0.01	100.90±0.01	93.90±0.01	111.6±0.00
TG-20	59.50±0.01	77.20±0.01	98.40±0.01	106.40±0.01

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.9. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte Na⁺ iyon miktarına etkisi

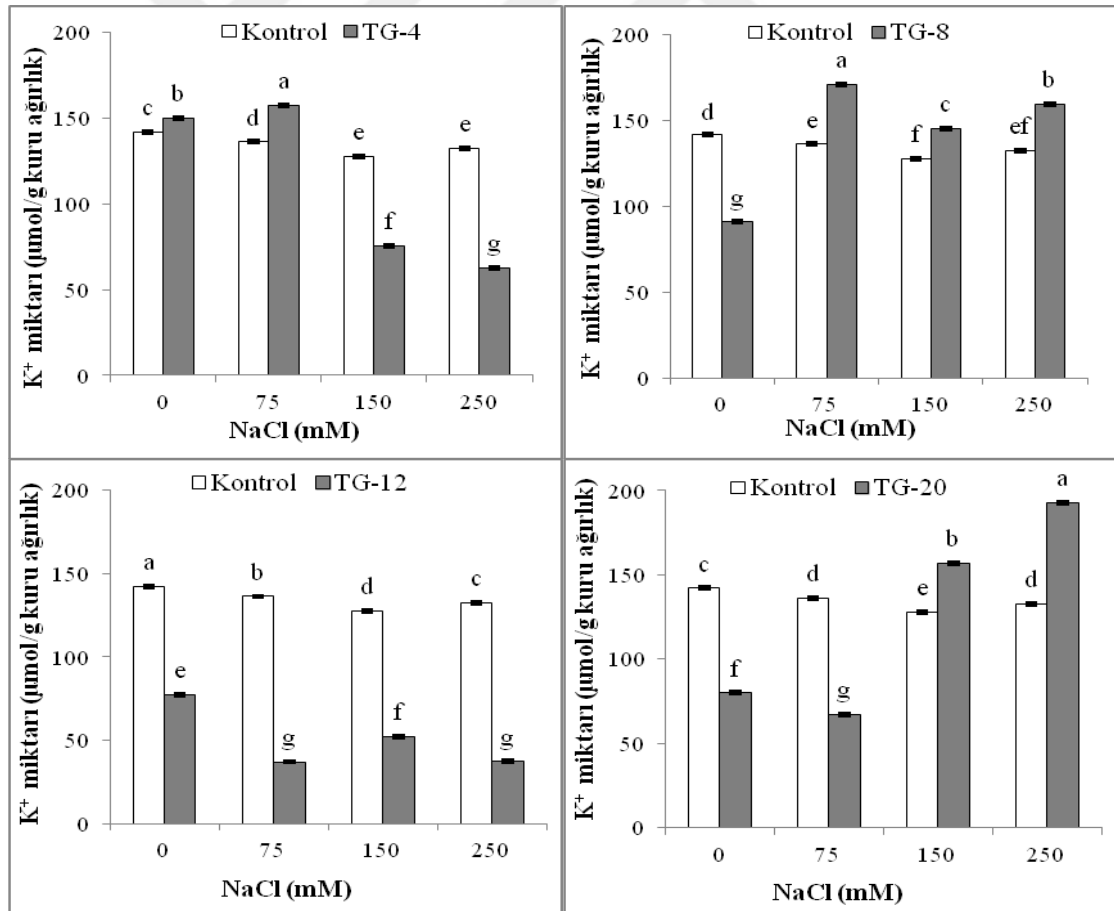
*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Potasyum (K⁺) elementi içeriği bulgularına bakıldığında, tek başına tuz uygulaması 150 ve 250 mM tuz koşullarında kontrole göre tüm konsantrasyonlarda K⁺ iyonu miktarında yaprakta azalmaya neden olmuşken kökte ise sırasıyla %68 ve %54 oranında artışa neden olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında TG-8 izolatı yaprakta K⁺ iyonunu artırırken, kökte ise düşürmüştür. TG-12 izolatı yaprakta ve kökte 150 ve 250 mM tuz koşullarında K⁺ miktarını kontrole göre azaltmıştır. Yaprakta en yüksek K⁺ miktarına kontrole göre %45 oranında artışla 250 mM tuz uygulanmış TG-20'de rastlanırken, kökte ise %80 oranında artış gösteren 75 mM tuz şartlarındaki TG-4 izolatında rastlanılmıştır. Kontrolüne göre yaprakta K⁺ iyon miktarındaki azalış en fazla 75 ve 250 mM tuz uygulanmış TG-12 izolatında, kökte ise 150 mM tuz şartlarındaki TG-4 izolatında görülmüştür (Çizelge 4.11, 4.12 ve Şekil 4.10, 4.11).

Çizelge 4.11. Yaprakta K⁺ iyonu miktarları (μmol/g kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	142.00±0.05	136.10±0.05	127.60±0.05	132.50±0.05
TG-4	149.80±0.05	157.40±0.10	75.20±0.01	62.60±0.01
TG-8	90.80±0.01	170.70±0.01	145.00±1.00	159.60±0.01
TG-12	73.37±0.05	37.10±0.01	52.10±0.01	37.20±0.00
TG-20	79.90±0.01	66.80±0.01	156.80±0.01	192.60±0.01

*± standart hatayı ifade eder

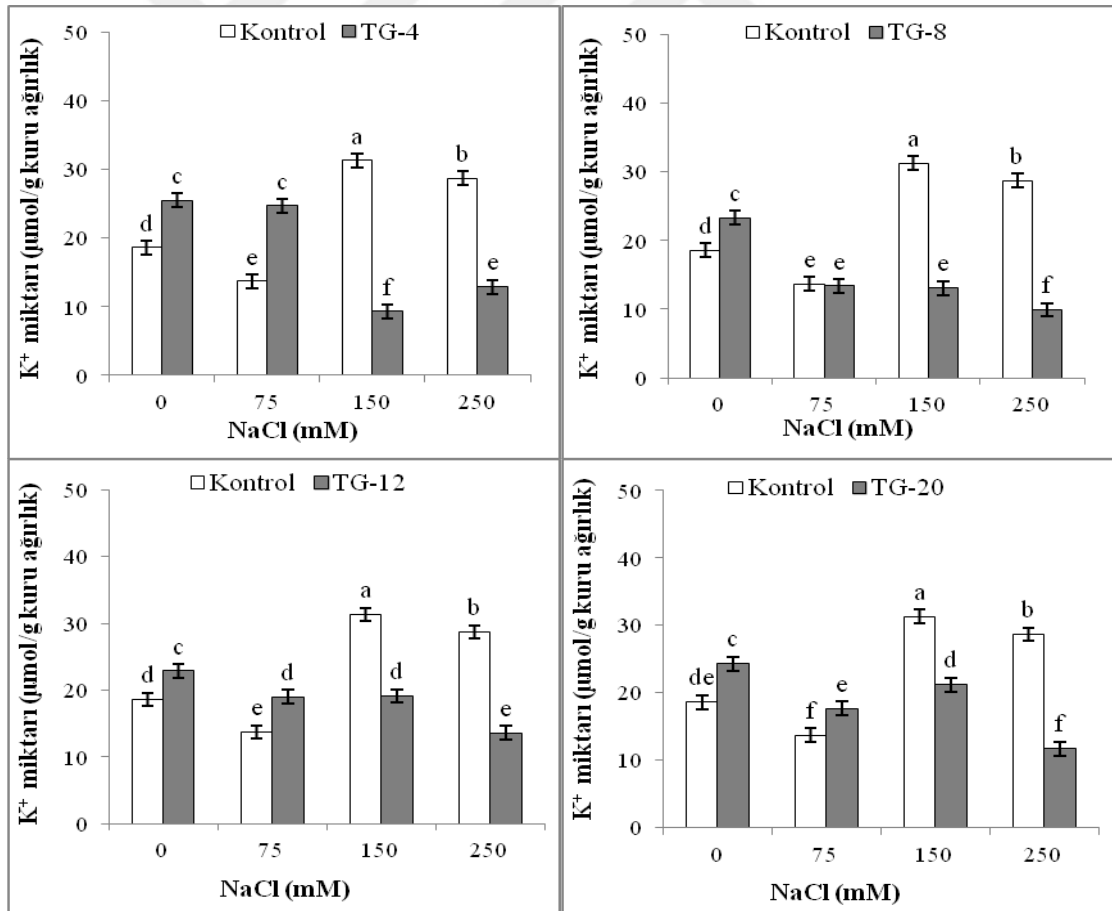
Şekil 4.10. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta K⁺ iyon miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.12. Kökte K⁺ iyonu miktarları (µmol/g kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	18.60±0.05	13.70±0.05	31.30±0.05	28.70±0.05
TG-4	25.50±0.05	24.70±0.01	9.30±0.01	12.90±0.01
TG-8	23.30±0.01	13.40±0.01	13.10±0.01	9.90±0.01
TG-12	22.90±0.01	19.00±0.01	19.10±0.01	13.60±0.01
TG-20	24.30±0.01	17.70±0.01	21.20±0.01	11.70±0.01

*± standart hatayı ifade eder

Şekil 4.11. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte K⁺ iyon miktarına etkisi

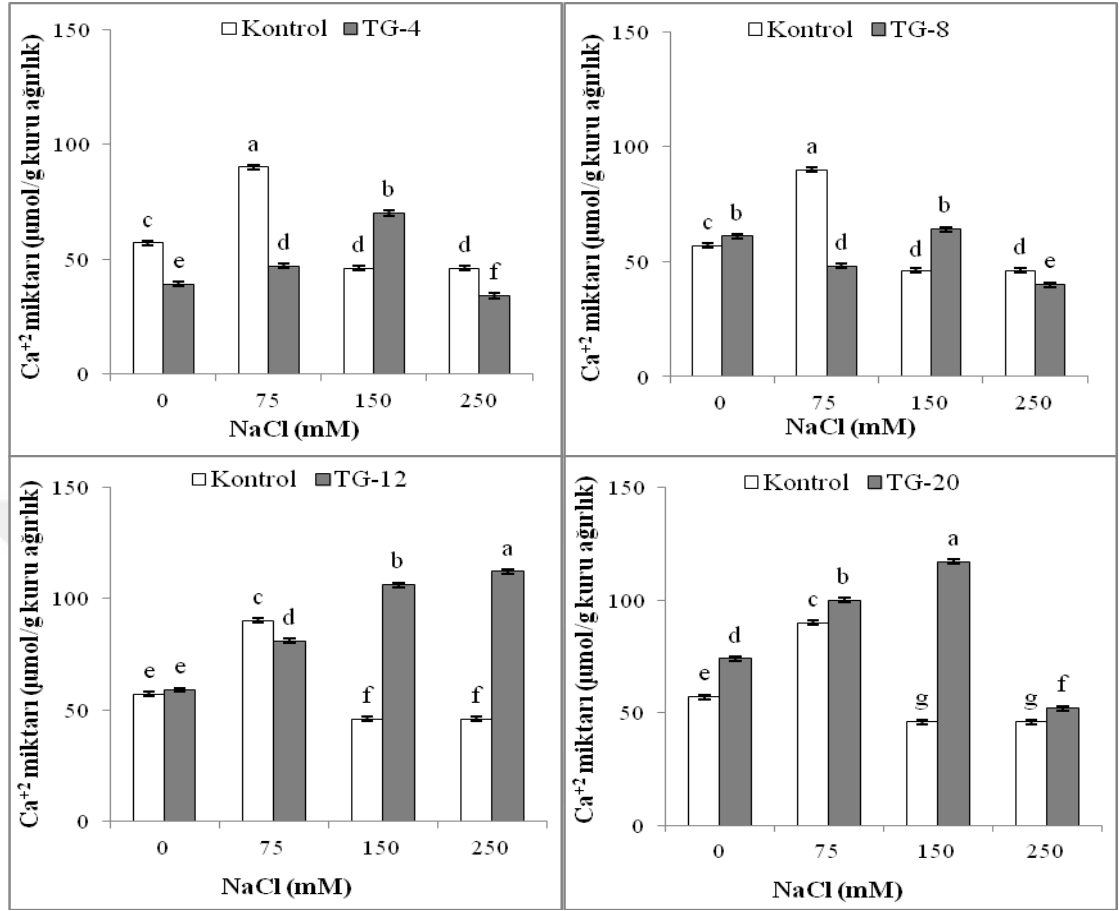
*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Kalsiyum (Ca^{+2}) miktarına ait bulgular Çizelge 4.13, 4.14 ve Şekil 4.12, 4.13'te sunulmuştur. Tek başına tuz uygulaması yaprakta Ca^{+2} içeriğini genelde düşürürken, köklerde ise artırmıştır. Tek başına bakteri uygulamaları ise yaprakta ve köklerde Ca^{+2} içeriğini genelde artırmıştır. Bakteri ve tuz birlikte uygulandığında, TG-12 ve TG-20 izolatları hem yaprak hem de kökte Ca^{+2} içeriğini genelde artırmıştır. Diğer bakteri izolatları ise Ca^{+2} içeriği üzerinde belirgin bir etki göstermemişlerdir. Örneğin TG-12, 150 ve 250 mM tuz uygulamalarında kontrole göre %100'den fazla Ca^{+2} miktarını artırmıştır. TG-4 ve TG-8 izolatları ise 150 mM tuzda Ca^{+2} miktarını artırırken 250 mM tuzda düşürmüştür. Tüm bakteri uygulamaları kökte 250 mM tuz uygulamasında Ca^{+2} miktarında düşüşe neden olmuşlardır. Kontrole göre en fazla artış 75 mM tuz şartlarında %66 oranında artışla TG-20'de görülmektedir. Düşük tuz uygulamalarında TG-8 ve TG-12 kökte Ca^{+2} miktarını artırmışken TG-4 ise tüm tuz uygulamalarında azalışa neden olmuştur (Çizelge 4.13, 4.14 ve Şekil 4.12, 4.13).

Çizelge 4.13. Yaprakta Ca^{+2} iyonu miktarları ($\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	57.0±0.00	90.0±0.05	46.0±0.05	46.0±0.05
TG-4	39.0±0.01	47.0±0.01	70.0±0.10	34.0±0.01
TG-8	61.0±0.01	48.0±0.01	64.0±0.01	40.3±0.01
TG-12	59.0±0.01	81.0±0.01	106.0±0.01	112.0±0.01
TG-20	74.0±0.01	100.3±0.06	117.0±0.01	52.0±0.01

*± standart hatayı ifade eder



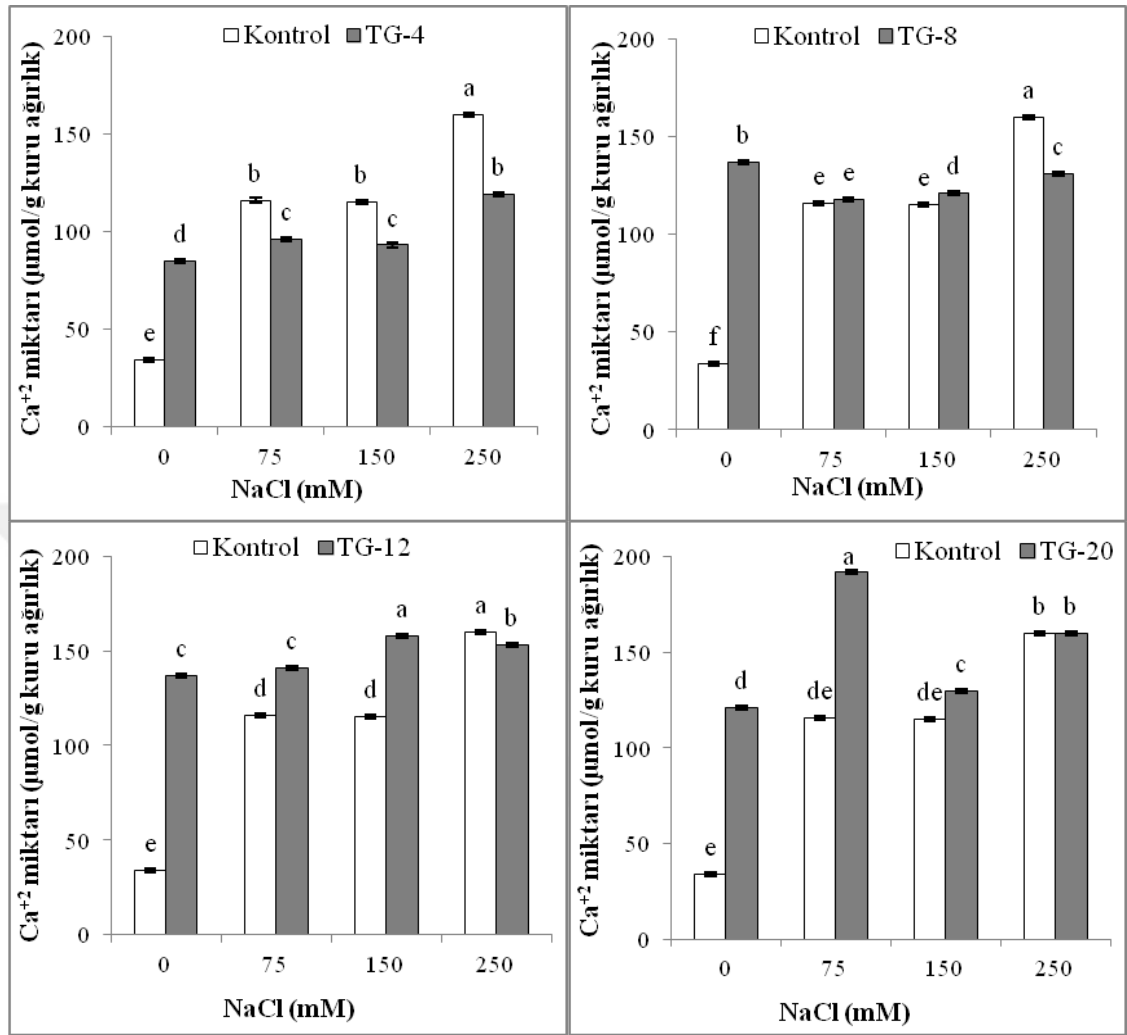
Şekil 4.12. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yaprakta Ca^{+2} iyon miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.14. Kökte Ca^{+2} iyonu miktarları ($\mu\text{mol/g}$ kuru ağırlık)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	33.6±0.04	116.0±0.05	115.0±0.00	160.0±0.05
TG-4	85.0±0.01	96.0±0.01	93.0±0.01	119.0±0.01
TG-8	137.0±0.01	118.0±0.01	121.0±0.01	131.0±0.01
TG-12	137.0±0.01	141.0±0.01	158.0±0.01	153.0±0.01
TG-20	121.0±0.01	192.0±0.01	130.3±0.06	160.3±0.06

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.13. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte Ca^{+2} iyon miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

4.7. Lipid Peroksidasyon Seviyesi (MDA Miktarı) Bulguları

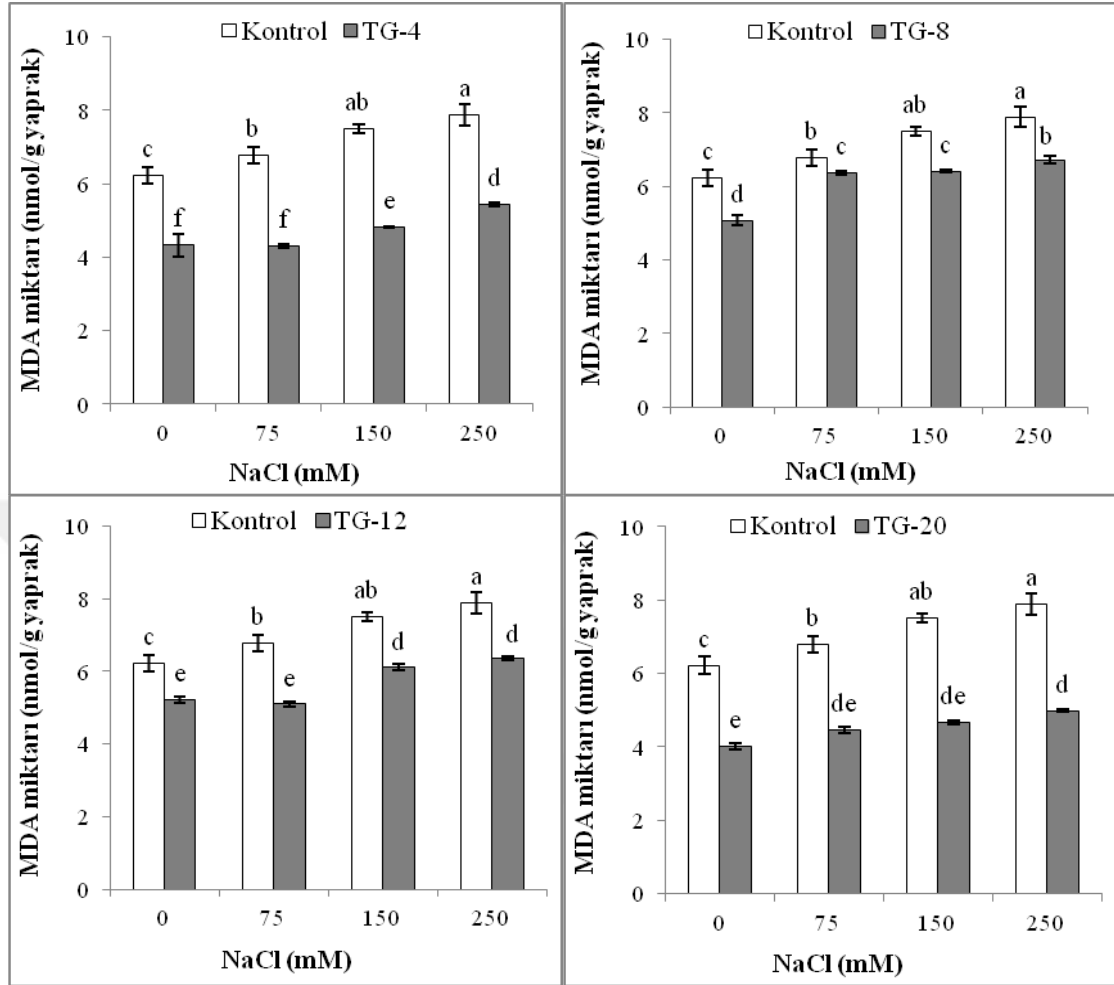
Tek başına tuz uygulaması MDA miktarını kontrole göre artırmıştır. Kontrolde 6.22 nmol.g^{-1} olarak ölçülen MDA miktarı tuz uygulamasıyla birlikte 7.89 nmol.g^{-1} seviyelerine kadar artmıştır (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14). Tek başına bakteri uygulamaları da genelde MDA seviyesini düşürmüştür. Tuzla birlikte bakteri uygulanan gruplar özellikle yüksek tuz konsantrasyonlarında kontrole göre MDA miktarında önemli ($p < 0.05$) oranda düşürmüştür. Tüm izolatlar MDA miktarlarını kontrole göre düşürmüşlerdir. Yüksek tuz koşullarında (250 mM) TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20

izolatları kontrole göre MDA miktarlarını sırasıyla %31, %15, %19 ve %37 oranlarında azaltmışlardır. Ayrıca tüm uygulamalarda (0.0, 75, 150 ve 250 mM) kontrollerine göre TG-4 izolatı MDA miktarını sırasıyla %30, %36, %36 ve %31 oranında düşürürken, TG-20 izolatı ise sırasıyla %35, %34, %38 ve %37 oranında azaltmıştır (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14).

Çizelge 4.15. MDA miktarı sonuçları (nmol/g yaprak)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	6.22±0.23	6.78±0.22	7.50±0.12	7.89±0.29
TG-4	4.33±0.30	4.31±0.05	4.82±0.03	5.44±0.04
TG-8	5.08±0.14	6.38±0.05	6.41±0.03	6.72±0.10
TG-12	5.22±0.08	5.10±0.07	6.10±0.09	6.36±0.04
TG-20	4.02±0.08	4.45±0.08	4.66±0.04	4.99±0.02

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.14. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının MDA miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

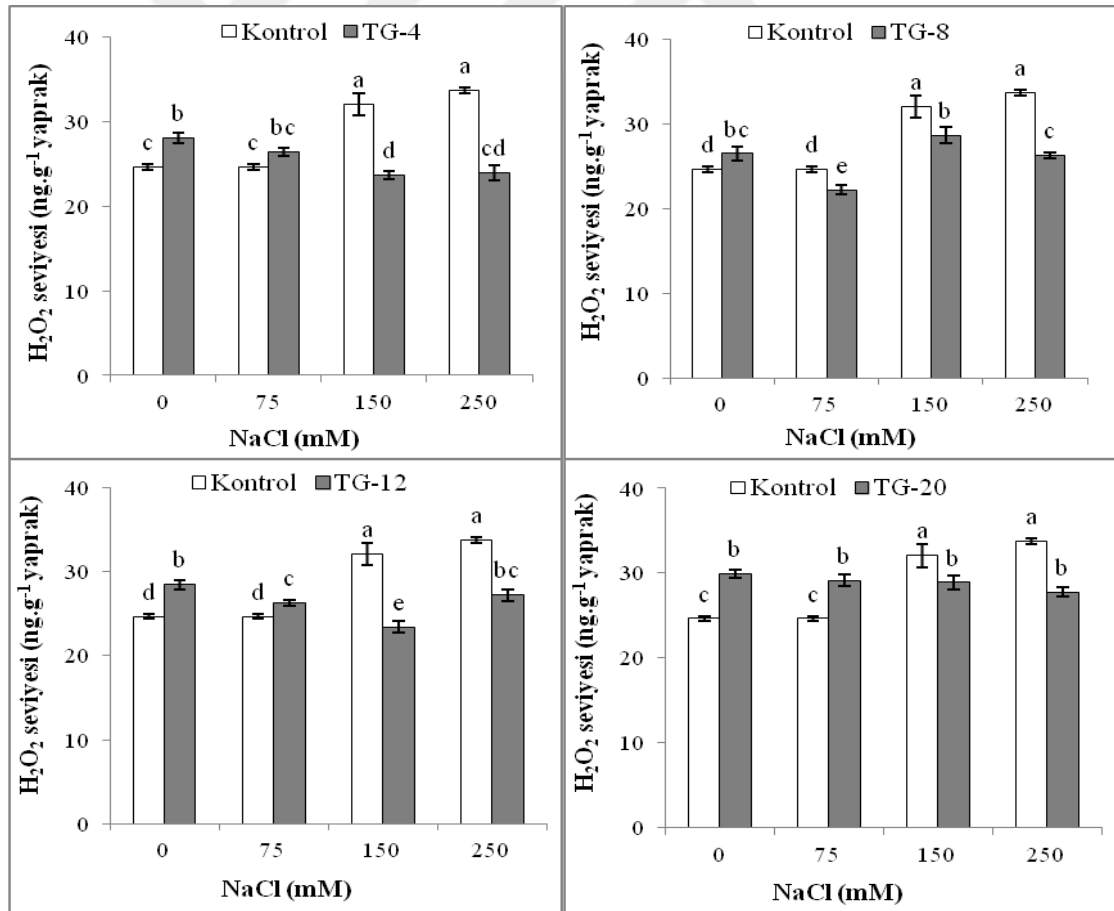
4.8. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Miktarına Ait Bulgular

Tuzlu koşullarda yetiştirilen bitkilerde kontrole göre H_2O_2 miktarı, tuz miktarının artmasına paralel olarak önemli derecede artmıştır ($p < 0.05$) (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.15). Bakteri+tuz uygulamalarında özellikle 150 ve 250 mM tuz şartlarında tüm bakteri izolatları H_2O_2 miktarını kontrole göre önemli ölçüde düşürmüşlerdir ($p < 0.05$). Düşük tuz koşullarında (75 mM) TG-4, TG-12 ve TG-20 H_2O_2 miktarında kontrole göre artış sağlarken TG-28 %11 oranında bir düşüşe neden olmuştur. 250 mM tuzda en iyi sonucu kontrole göre %30'luk bir azalış gösteren TG-4 izolatı, 150 mM tuzda ise %27'lik bir azalış gösteren TG-12 izolatı gerçekleştirmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.15).

Çizelge 4.16. Hücresel H₂O₂ seviyesi sonuçları (ng.g⁻¹ yaprak)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	24.62±0.29	24.62±0.29	32.05±1.34	33.72±0.32
TG-4	28.11±0.59	26.40±0.48	23.64±0.46	23.94±0.93
TG-8	26.51±0.84	22.22±0.57	28.68±1.00	26.27±0.40
TG-12	28.43±0.57	26.28±0.31	23.40±0.66	27.18±0.72
TG-20	29.90±0.45	29.13±0.68	28.88±0.86	27.71±0.56

*± standart hatayı ifade eder.

Şekil 4.15. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda H₂O₂ seviyesine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

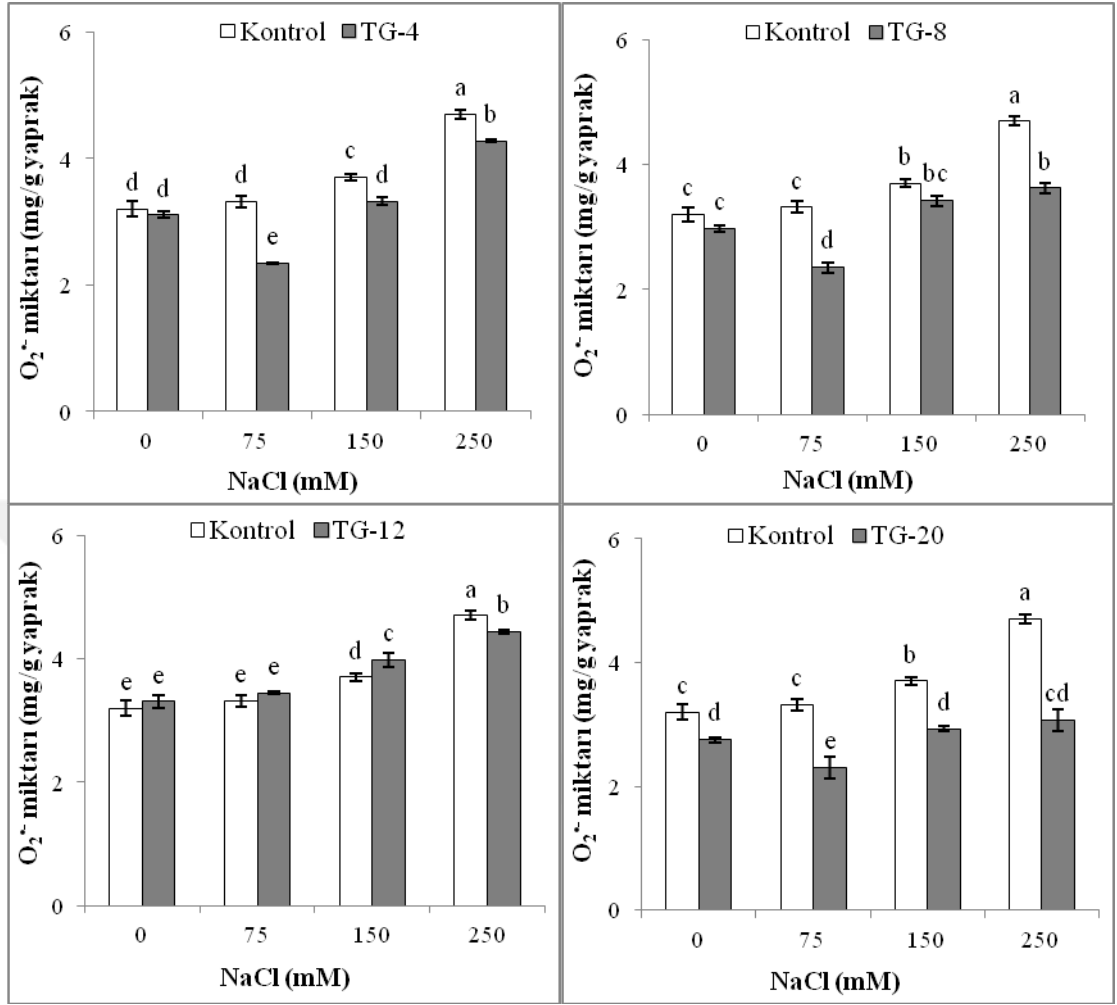
4.9. Süperoksit Anyonu ($O_2^{\cdot-}$) Miktarı Bulguları

Süperoksit anyon miktarları gerek tek başına tuz uygulamalarında ve gerekse de bakterili tuz uygulamalarında sonucu kontrole göre önemli seviyede ($p<0.05$) etkilemiştir (Çizelge 4.17 ve şekil 4.16). Tek başına bakteri uygulamaları $O_2^{\cdot-}$ içeriğini genelde düşürmüşlerdir. Diğer taraftan, kontrolde 3.20 ng.g^{-1} yaprak olarak belirlenen süperoksit içeriği artan tuz şartlarına bağlı olarak %57'lere varan bir artışla 4.69 ng.g^{-1} yaprak seviyelerine kadar yükselmiştir. Bakteri+tuz uygulamalarında ise TG-4, TG-8 ve TG-20 izolatları uygulanan tüm tuz konsantrasyonlarında kontrolle karşılaştırıldığında süperoksit içeriğinde önemli seviyelerde azalışlar göstermişlerdir. TG-12 izolatu ise sadece 250 mM tuzda %11 oranında bir azalış göstermiştir. Kontrolde 250 mM tuz şartlarında $4,69 \text{ ng.g}^{-1}$ yaprak olan süperoksit miktarı, TG-20 izolatında %39 oranında bir düşüşle 3.06 ng.g^{-1} yaprak seviyelerine düşmüştür (Çizelge 4.17 ve şekil 4.16).

Çizelge 4.17. Süperoksit anyonu miktarı sonuçları (ng.g^{-1} yaprak)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	3.20 ± 0.12	3.31 ± 0.09	3.70 ± 0.06	4.69 ± 0.07
TG-4	3.10 ± 0.05	2.34 ± 0.02	3.32 ± 0.06	4.28 ± 0.03
TG-8	2.97 ± 0.05	2.35 ± 0.08	3.42 ± 0.08	3.62 ± 0.09
TG-12	3.30 ± 0.11	3.45 ± 0.01	3.98 ± 0.12	4.43 ± 0.03
TG-20	2.75 ± 0.05	2.30 ± 0.17	2.93 ± 0.04	$3.06 \pm 0.17^{\text{Ad}}$

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.16. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının O_2^- anyonu miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

4.10. Antioksidanların Aktivitelerine Ait Bulgular

4.10.1. Enzimatik antioksidan aktivitelerine ait bulgular

4.10.1.a. Katalaz (CAT) aktivitesi bulguları

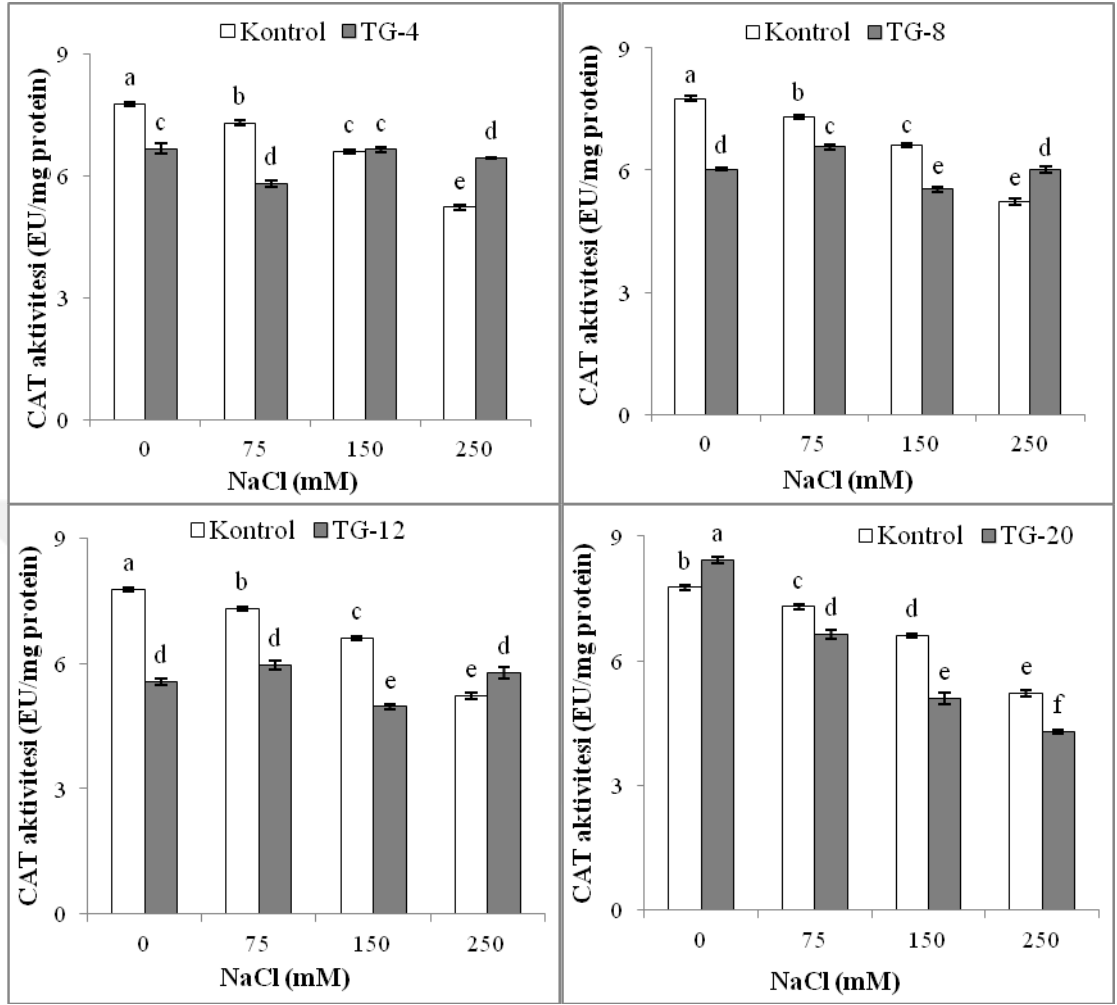
CAT aktivitesi tek başına tuz uygulamalarında kontrole göre önemli ($p < 0.05$) oranda düşüş göstermiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.17). Örneğin kontrol bitkisinin yapraklarındaki hücresel CAT aktivitesi $1.55 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ iken 250 mM tuz şartlarında bu değer %35 oranında azalarak $1.04 \text{ EU} \cdot \text{mg}^{-1}$ seviyesine düşmüştür. Tek başına bakteri

uygulamaları CAT aktivitesini genelde düşürmüşlerdir. Bakteri uygulamaları 75 ve 150 mM tuz koşullarında genelde kontrole göre CAT miktarında düşüşe neden olurken, 250 mM tuz uygulamasında ise artışa neden olmuştur. Bu artışlar 250 mM tuz şartlarında TG-4, TG-8 ve TG-12 izolatlarında sırasıyla %29, %20 ve %15 oranlarında olurken aynı tuz konsantrasyonunda TG-20’de ise %14’lük bir azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.17).

Çizelge 4.18. CAT aktivitesi sonuçları (EU/mg protein)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	7.76±0.05	7.30±0.05	6.60±0.04	5.22±0.07
TG-4	6.66±0.13	5.80±0.07	6.64±0.05	6.43±0.03
TG-8	6.03±0.04	6.57±0.05	5.53±0.07	6.01±0.09
TG-12	5.56±0.08	5.95±0.10	4.96±0.07	5.77±0.13
TG-20	6.64±0.07	6.64±0.10	5.08±0.14	4.29±0.05

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.17. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda CAT aktivitesi değerleri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

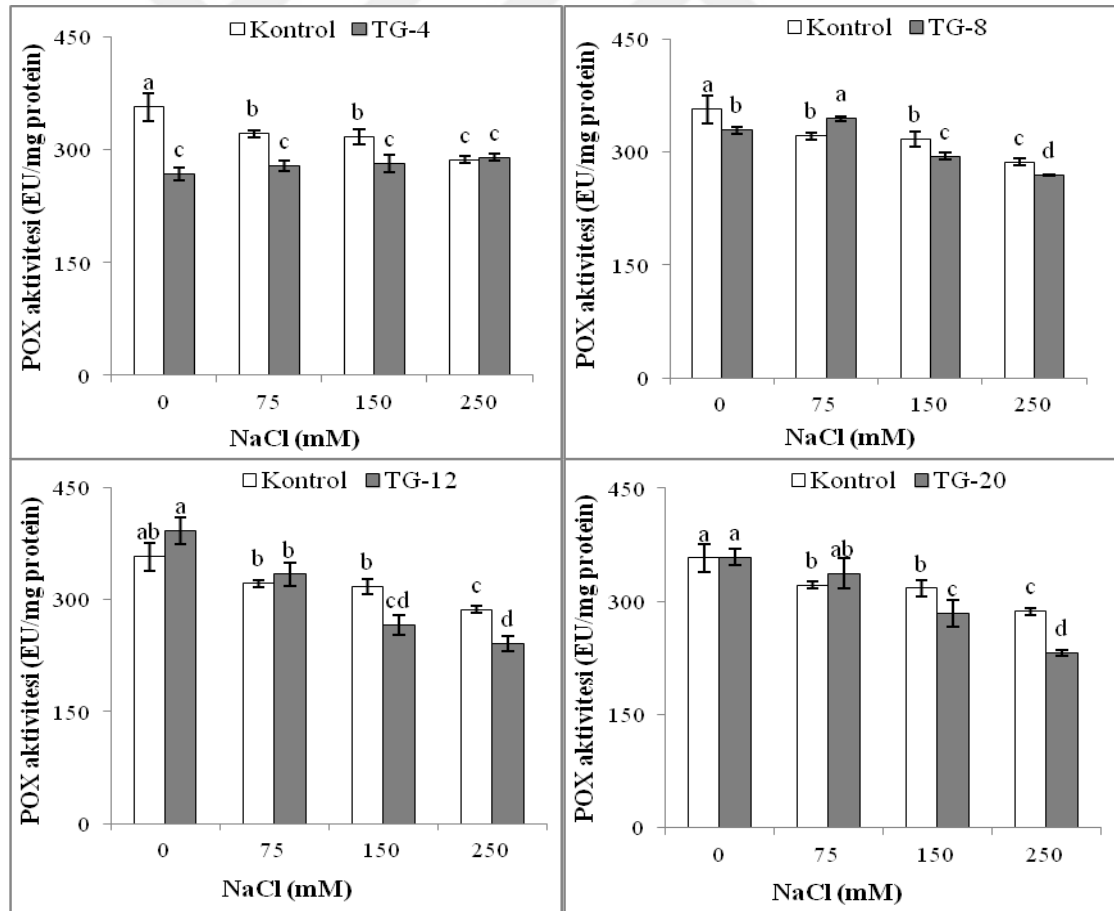
4.10.1.b. Guaiakol peroksidaz (POX) aktivitesi bulguları

Kontrol bitkisinin yapraklarında POX aktivitesi $357.25 \text{ EU.mg}^{-1}$ iken artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak %10 ila %20 arasında düşüşle $286.59 \text{ EU.mg}^{-1}$ 'e kadar düşüş gerçekleşmiştir. Düşük tuz konsantrasyonunda (75 mM) TG-8, TG-12 ve TG-20 kontrole göre POX aktivitesinde önemsiz bir artış belirlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonlarında ise genel olarak tüm bakteri uygulamaları POX aktivitesi düşüş göstermiştir. En fazla düşüş %19 oranında 250 mM tuz uygulanmış TG-20 izolatında görülmüştür (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.18).

Çizelge 4.19. POX aktivitesi sonuçları (EU/mg protein)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	357.2±18.4	321.6±4.8	317.3±10.7	286.5±4.6
TG-4	267.8±7.9	278.6±6.8	281.7±11.0	290.1±5.1
TG-8	329.3±4.8	344.9±3.2	294.8±4.1	269.1±1.1
TG-12	392.2±17.9	333.8±15.7	265.9±13.7	240.4±10.3
TG-20	358.1±10.7	336.8±20.0	283.8±18.2	231.8±3.9

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.18. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda POX aktivitesi değerleri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

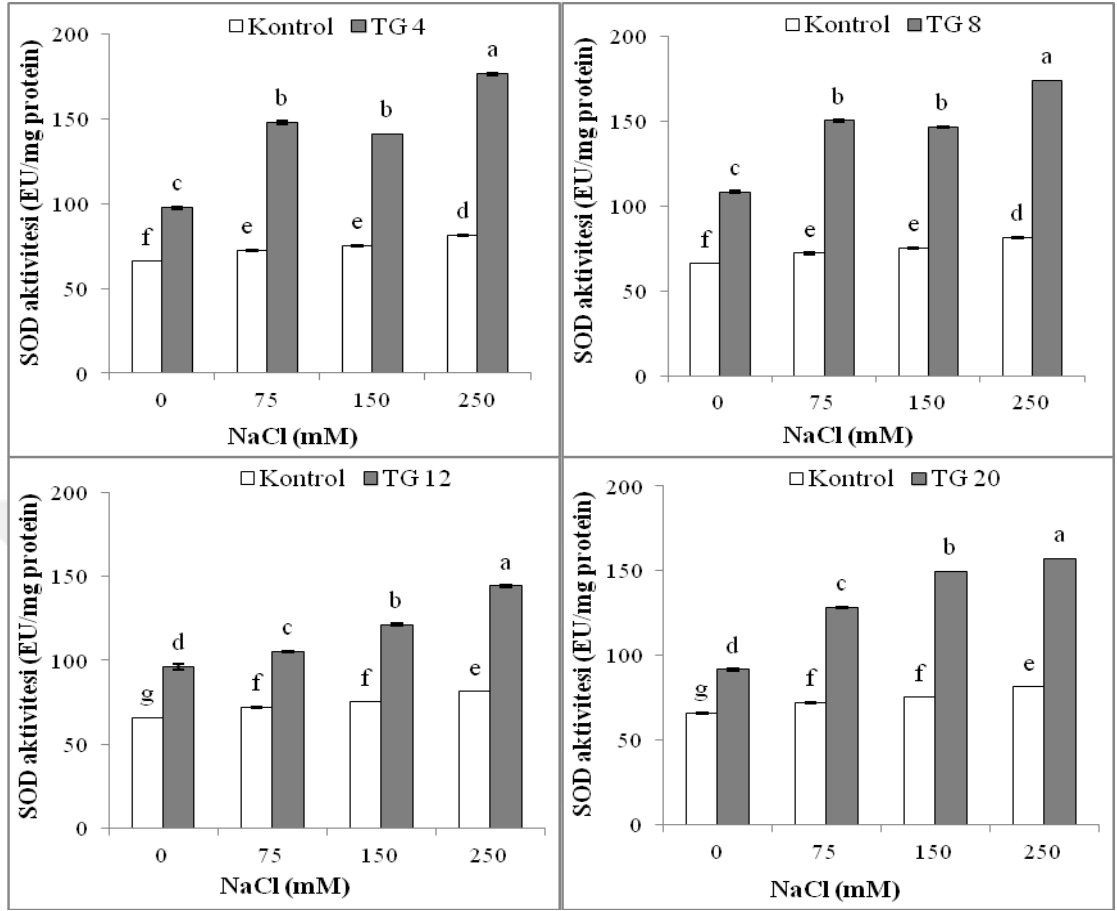
4.10.1.c. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi bulguları

SOD aktivitesi sadece tuz uygulanmış gruplarda kontrole göre istatistiksel olarak önemli ($p<0.05$) bir değişim göstermiştir (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.19). Tek başına bakteri uygulamaları aktiviteyi artırmıştır. Bakteri+tuz uygulanmış gruplarda da SOD aktivitesi kontrole göre önemli seviyede ($p<0.05$) artmıştır. Özellikle 75 ve 250 mM tuz şartlarında TG-4 ve TG-8 izolatları SOD aktivitesini kontrollerine göre en yüksek oranda artırmıştır. TG-12 izolatı 250 mM tuzda kontrole göre %77'lik bir artışla 144.3 EU.mg⁻¹ iken, TG-20 izolatı ise 150 mM tuzda kontrolüne göre %99 oranında bir artışla 149.6 EU.mg⁻¹ olmuştur (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.19).

Çizelge 4.20. SOD aktivitesi sonuçları (EU/mg protein)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	65.95±0.13	72.15±0.41	75.17±0.17	81.33±0.27
TG-4	97.60±0.62	147.9±0.71	141.2±0.09	176.5±0.55
TG-8	108.15±0.69	150.4±0.60	146.4±0.17	173.8±0.03
TG-12	96.35±1.71	105.4±0.4	121.4±0.59	144.3±0.56
TG-20	91.66±0.60	128.1±0.27	149.6±0.07	156.8±0.15

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.19. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda SOD aktivitesi değerleri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

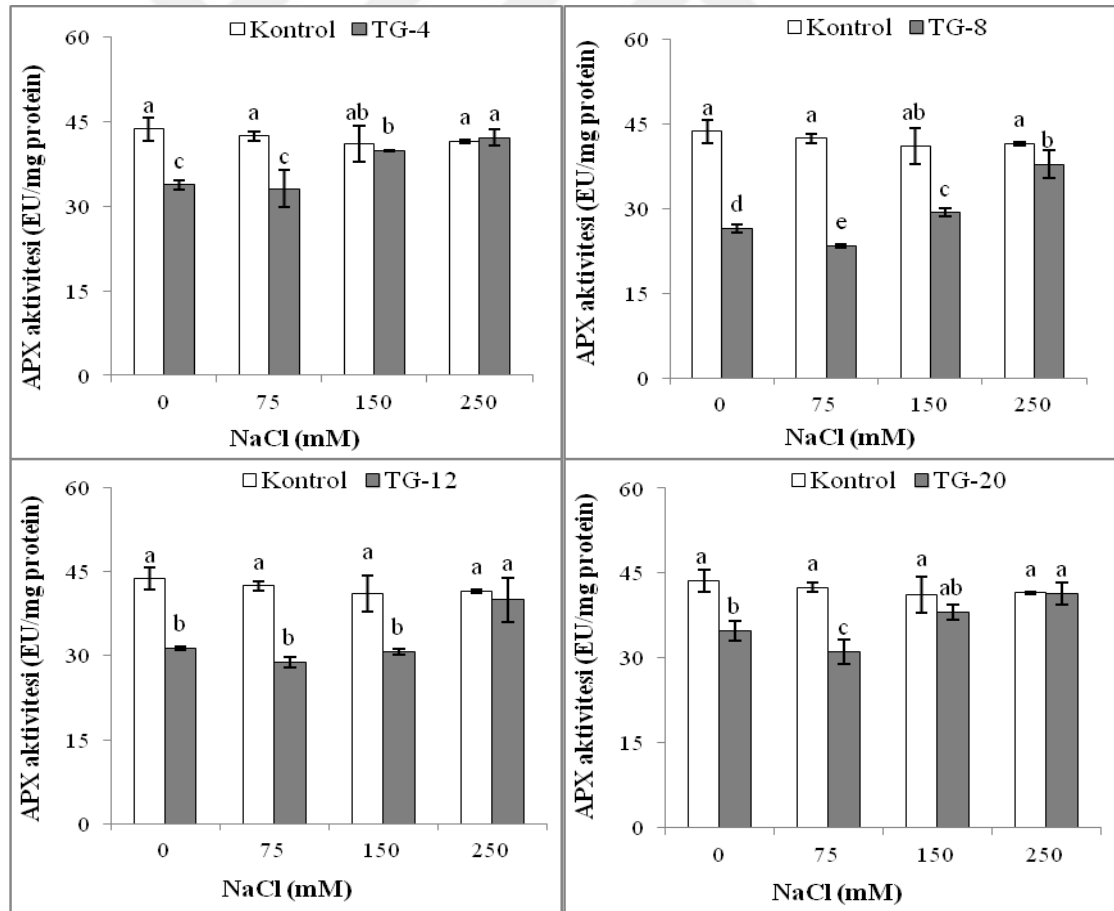
4.10.1.d. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesi bulguları

Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre APX aktivitesi üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p > 0.05$) değişimlere neden olmamıştır. Tek başına bakteri uygulamaları ise aktiviteyi düşürmüştür. Bakteri+tuz uygulamaları kontrolleri ile kıyaslandığında aktiviteyi genelde düşürmüştür. TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20 izolatları, 75 mM tuz şartlarında aktiviteyi kontrole göre sırasıyla %21, %44, %31 ve %26 oranında düşürmüştür. TG-8 izolatı 150 mM tuz uygulamasında APX miktarını kontrole göre %29 oranında düşürürken, TG-12 izolatı ise aynı tuzda %25 oranında düşürmüştür. Yüksek tuz konsantrasyonunda ise düşüşler olmakla birlikte önemli ($p > 0.05$) olmamıştır (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.20).

Çizelge 4.21. APX aktivitesi sonuçları (EU/mg protein)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	43.65±1.97	42.42±0.80	41.10±3.18	41.49±0.25
TG-4	33.78±0.82	33.13±3.26	39.86±0.15	42.16±1.41
TG-8	26.42±0.74	23.40±0.35	29.27±0.73	37.86±2.44
TG-12	31.29±0.38	28.81±0.97	30.62±0.48	39.97±3.98
TG-20	34.80±1.68	31.07±2.11	38.08±1.38	41.31±1.98

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.20. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda APX aktivitesi değerleri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

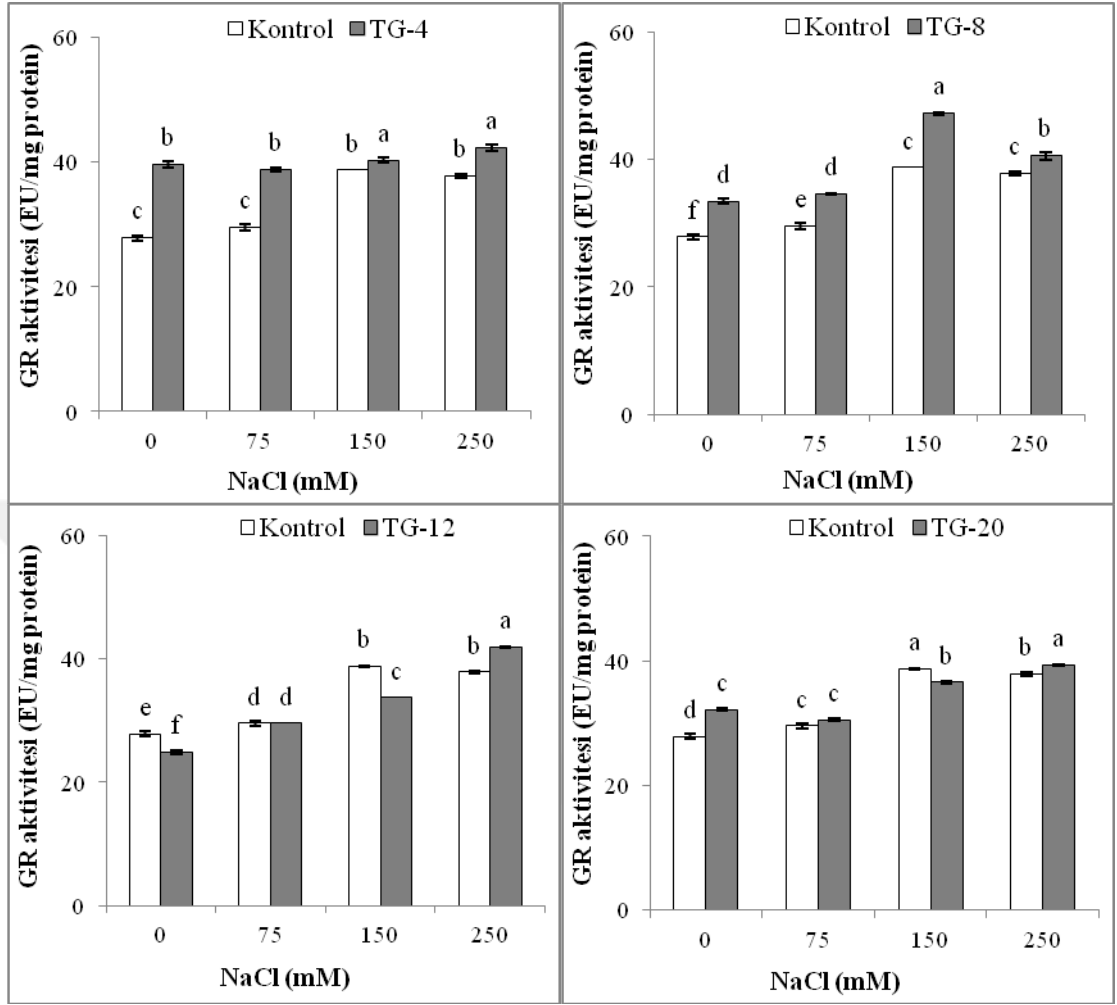
4.10.1.e. Glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi bulguları

Tuz uygulamaları kontrol grubuna göre GR aktivitesinde artışa neden olmuştur (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.21). Kontrol grubunda 2.78 EU.mg^{-1} olan GR aktivitesi artan tuz uygulamalarında sırasıyla 2.95 EU.mg^{-1} , 3.87 EU.mg^{-1} ve 3.78 EU.mg^{-1} olarak bulunmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları da genelde aktiviteyi artırmıştır. Bakteri+tuz uygulamaları GR aktivitesi bakımından gruplar arası farklılıklar göstermiştir. TG-4 ve TG-8 izolatları tüm tuz konsantrasyonlarında artışa neden olmuşken, TG-12 yüksek konsantrasyonda, TG-20 ise düşük tuz konsantrasyonlarında artışa neden olmuştur. En yüksek GR aktivitesine kontrole göre %29 artış gösteren 75 mM tuz uygulamasındaki TG-4 izolatında rastlanılmıştır. En fazla düşüşe ise kontrole göre %16 azalış gösteren 150 mM tuz uygulanmış TG-12 izolatında rastlanılmıştır (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.21).

Çizelge 4.22. GR aktivitesi sonuçları (EU/mg protein)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	2.78 ± 0.42	2.95 ± 0.46	3.87 ± 0.06	3.78 ± 0.28
TG-4	3.97 ± 0.50	3.88 ± 0.23	4.03 ± 0.45	4.23 ± 0.46
TG-8	3.34 ± 0.42	3.45 ± 0.05	4.72 ± 0.18	4.05 ± 0.55
TG-12	2.49 ± 0.7	2.95 ± 0.06	3.37 ± 0.04	4.18 ± 0.14
TG-20	3.21 ± 0.12	3.05 ± 0.23	3.65 ± 0.24	3.92 ± 0.19

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.21. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda GR aktivitesi değerleri

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.10.2. Enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerine ait bulgular

4.10.2.a. Total glutatyon (GSH) miktarına ait bulgular

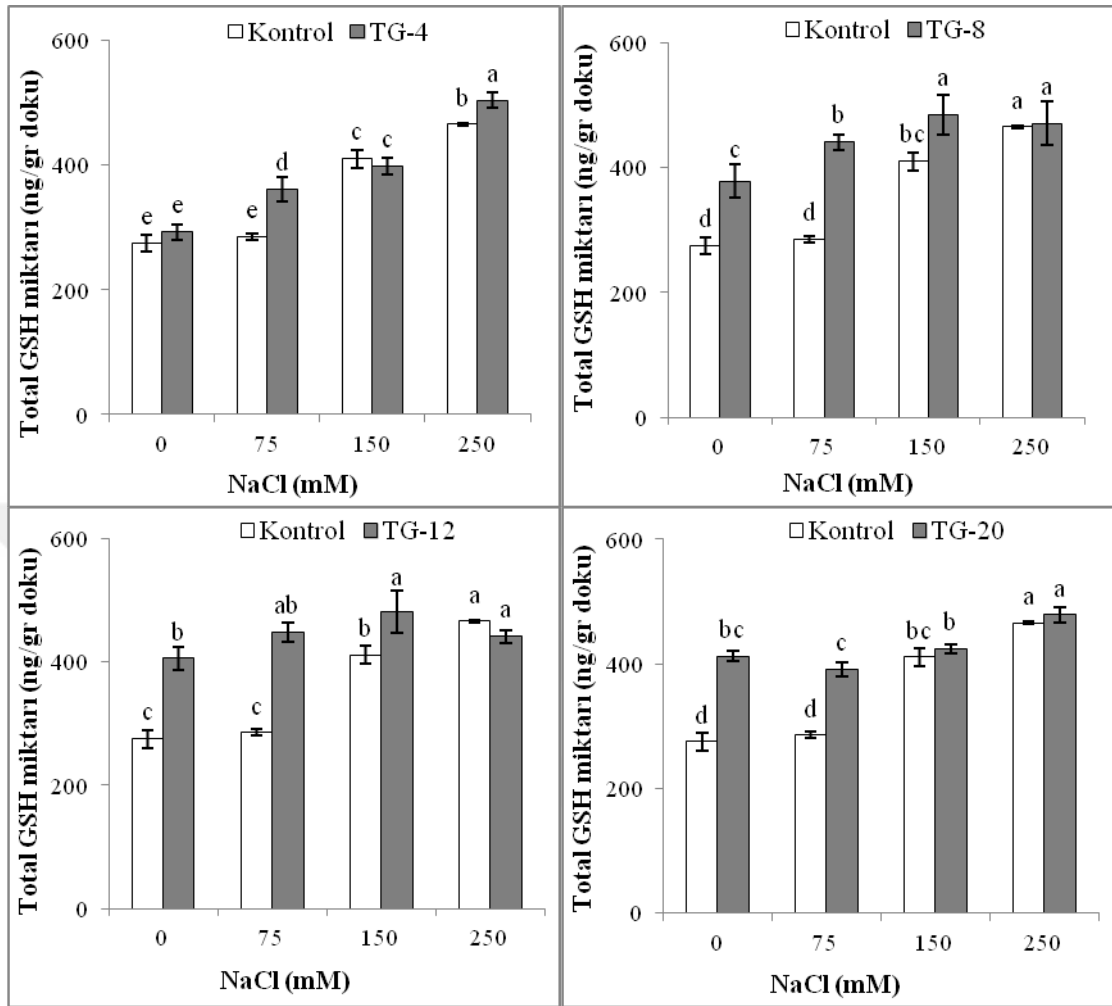
Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre total glutatyon (GSH) miktarını önemli ($p < 0.05$) oranda artırmıştır. (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.22). Kontrol grubunda total GSH içeriği 275.02 ng.g^{-1} olarak bulunurken, 75 mM tuzda %4'lük bir artışla 285.25 ng.g^{-1} , 150 mM tuzda %49'luk bir artışla 410.61 ng.g^{-1} ve 250 mM tuzda %69'luk bir artışla 465.61 ng.g^{-1} olarak bulunmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları da GR seviyesini

artırmıştır. Bakteri+tuz gruplarında tüm isolatlar GR içeriğini 75 mM tuzda artmıştır, artan tuzlarda ise artışlar belirgin olamamıştır. Örneğin 75 mM tuz uygulamasında total GSH içeriği TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20 isolatlarında sırasıyla kontrole göre %27, %25, %57 ve %37 oranlarında olmuştur. TG-8 izolatu tüm tuz uygulamalarında artışa neden olmuştur. TG-4 izolatu 150 mM tuz uygulamasında, TG-12 izolatu ise 250 mM tuz uygulamasında kontrole göre azalışa neden olmuştur (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.22).

Çizelge 4.23. Total GSH miktarı bulguları (ng/gr doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	275.0±14.0	285.2±5.0	410.6±14.4	465.6±1.6
TG-4	292.9±12.3	360.7±19.6	397.8±13.2	503.9±12.6
TG-8	378.6±26.4	441.3±12.3	484.8±31.7	470.7±34.9
TG-12	405.4±18.0	447.7±14.7	480.9±34.1	441.3±10.5
TG-20	411.8±8.4	391.4±11.2	423.4±7.3	478.4±11.5

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.22. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda total GSH üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

4.10.2.b. Askorbik asit içeriği bulguları

1. Total askorbat (Total AsA) miktarına ait bulgular

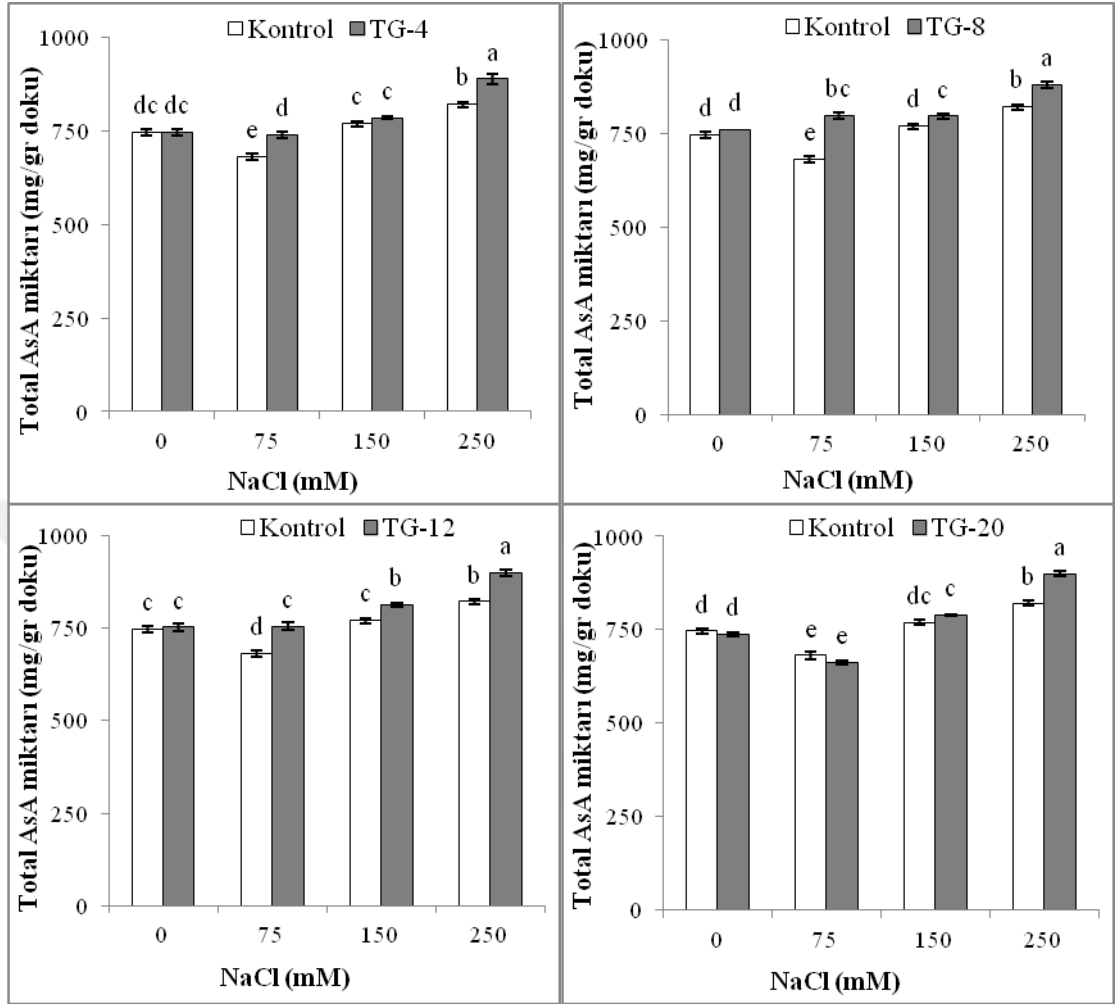
Tuz uygulamaları kontrolle kıyaslandığında, özellikle 150 ve 250 mM tuz uygulamaları total ASA içeriğini önemli ($p < 0.05$) derecede artırmıştır (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.23). Kontrolde 746.01 ng.g^{-1} olarak ölçülen total AsA içeriği, 250 mM tuz uygulamasında %10 oranında artış göstererek 820.96 ng.g^{-1} olarak bulunmuştur. Tek başına bakteri uygulamaları total ASA seviyesi üzerinde önemli ($p > 0.05$) seviyede etkili olamamıştır.

Bakteri+tuz uygulamaları ise genelde tüm tuz uygulamalarında kontrole göre önemli oranda artışa neden olmuştur. Kontrolleri ile kıyaslandığında, en fazla artış 75 mM tuzda TG-8 ve TG-12 izolatlarında görülmüş ve artışlar sırasıyla %17 ve %11 olarak bulunmuştur. Aynı tuz konsantrasyonunda TG-4 %9'luk bir artış gösterirken, TG-20 ise %3'lük bir azalma göstermiştir. Buna rağmen TG-20 izolatı 250 mM tuz uygulamasında kontrole göre %10 bir artış göstererek bu konsantrasyondaki en fazla total AsA artışını gerçekleştirmiştir (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.23).

Çizelge 4.24. Total AsA miktarı bulguları (ng/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	746.0±8.03	680.7±9.30	769.5±7.55	820.9±6.81
TG-4	747.1±8.92	741.0±8.49	785.6±4.47	889.5±13.9
TG-8	761.6±0.94	797.6±8.21	796.3±5.48	879.7±9.44
TG-12	751.9±9.50	755.0±8.94	811.1±5.04	898.6±7.35
TG-20	736.8±5.21	662.2±5.08	789.5±1.81	899.7±7.14

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.23. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda total AsA miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır.

2. Yükseltgenmiş askorbat (DHA) miktarına ait bulgular

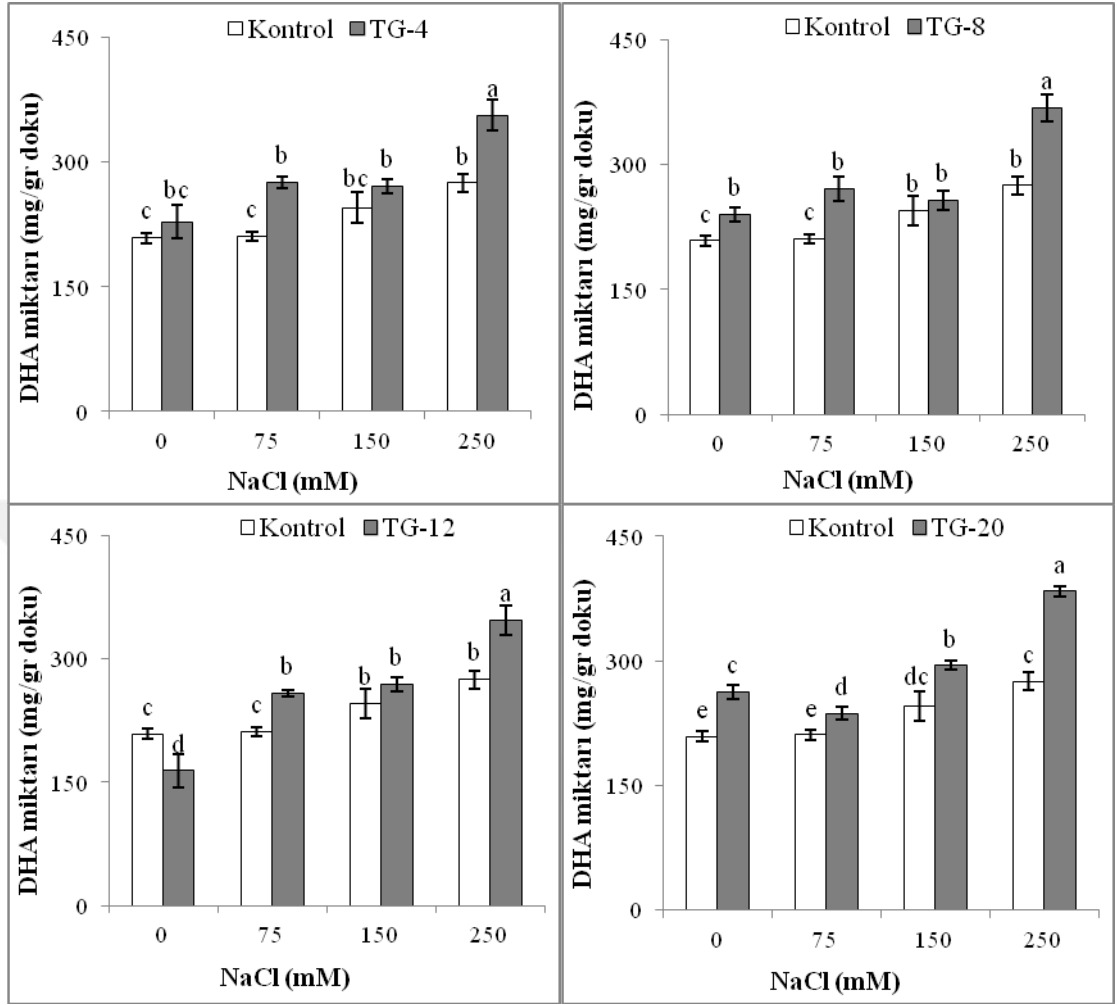
Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre DHA miktarında önemli artışlara neden olmuştur (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.24). Kontrolde 208.78 ng.g^{-1} olan DHA miktarı tuz uygulamalarında 75 mM tuzda %1 artarak 210.88 ng.g^{-1} , 150 mM tuzda %18 artarak 245.51 ng.g^{-1} ve 250 mM tuzda %32 artarak 275.00 ng.g^{-1} olarak bulunmuştur. Bakteri uygulamaları tuzlu şartlarda kontrollerine göre tüm gruplarda artışa neden olmuştur. Tek başına bakteri uygulamalarında TG-12 önemli bir düşüşe, TG-20 ise önemli bir artışa sebep olmuştur. Bakteri+tuz gruplarının hemen hepsinde DHA içeriği artmıştır. DHA içeriğinde en fazla artış, 250 mM tuzda gerçekleşmiş ve TG-4, TG-8, TG-12 ve

TG-20 izolatlarında kontrole göre bu artışlar sırasıyla %30, %34, %26 ve %40 oranlarında olmuştur. Bakteri uygulamalarından 75 mM tuzda kontrole göre en iyi artışı %31 ile TG-4 sağlarken, 150 mM tuza ise %20 artışla TG-20 gerçekleştirmiştir (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.24).

Çizelge 4.25. DHA miktarı bulguları (ng/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	208.7±6.1	210.8±5.6	245.5±17.8	275.0±11.0
TG-4	228.2±19.9	275.8±6.9	270.6±8.4	356.6±18.6
TG-8	240.0±8.6	270.8±14.5	257.0±12.1	368.1±16.5
TG-12	164.0±20.7	257.9±4.0	268.9±7.8	347.1±17.5
TG-20	263.0±8	236.5±7.6	294.0±5.3	383.6±6.6

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.24. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının DHA miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

3. İndirgenmiş askorbat (AsA) bulguları

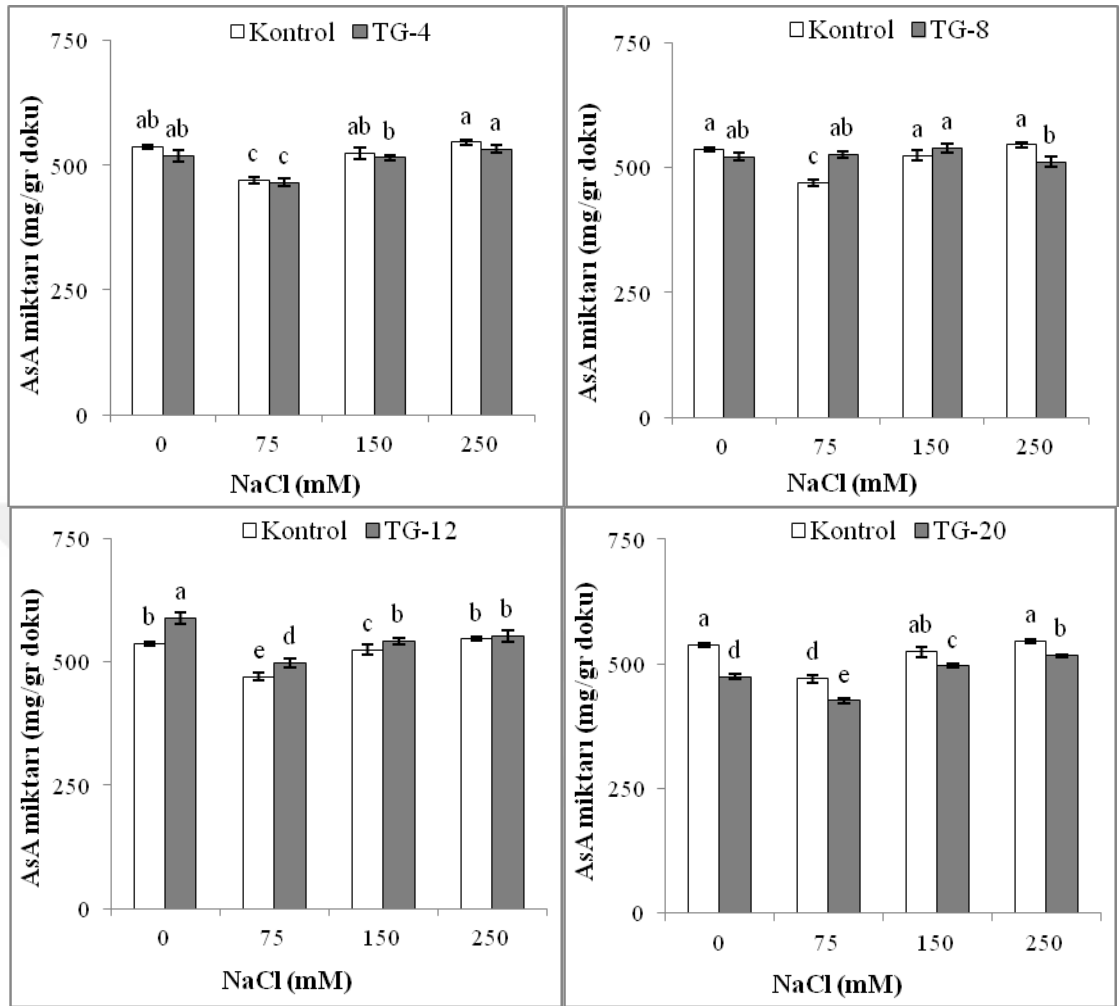
Tek başına tuz uygulamaları mısır yapraklarında AsA içeriği üzerinde önemli ($p < 0.05$) farklılıklara neden olmamıştır (Çizelge 4.26 ve Şekil 4.25). Kontrol (0.0 mM) bitkilerinde 537.23 ng.g^{-1} olarak bulunan AsA, 250 mM tuz uygulanmış bitkilerde %2'lik bir artış göstererek 545.95 ng.g^{-1} olmuştur. Bakteri izolatlarımızdan TG-8 AsA içeriğini artırırken, TG-12 düşürmüştür. Bakteri+tuz uygulamaları kontrolleriyle karşılaştırıldığında TG-12 genelde AsA içeriğini düşürmüş, ancak diğer izolatlar düzenli bir artış veya düşüş göstermemişlerdir. Kontrolüyle karşılaştırıldığında en iyi

etkiyi %12 oranında artış sağlayan 75 mM tuz uygulanmış TG-8 izolatu vermiştir (Çizelge 4.26 ve Şekil 4.25).

Çizelge 4.26. AsA miktarı bulguları (ng/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	537.2±4.3	469.8 ±7.0	524.0±10.4	545.9±4.2
TG-4	518.9±11.3	465.1±7.6	515.0±4.2	532.9±7.7
TG-8	521.6±7.7	526.8±6.5	539.2±9.1	511.6±10.8
TG-12	587.9±12.0	497.0±8.9	542.1±6.6	551.5±12.2
TG-20	473.8±5.2	425.7±5.0	495.4±3.6	516.0±2.5

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.25. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda AsA miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

4.11. Prolin Miktarına Ait Bulgular

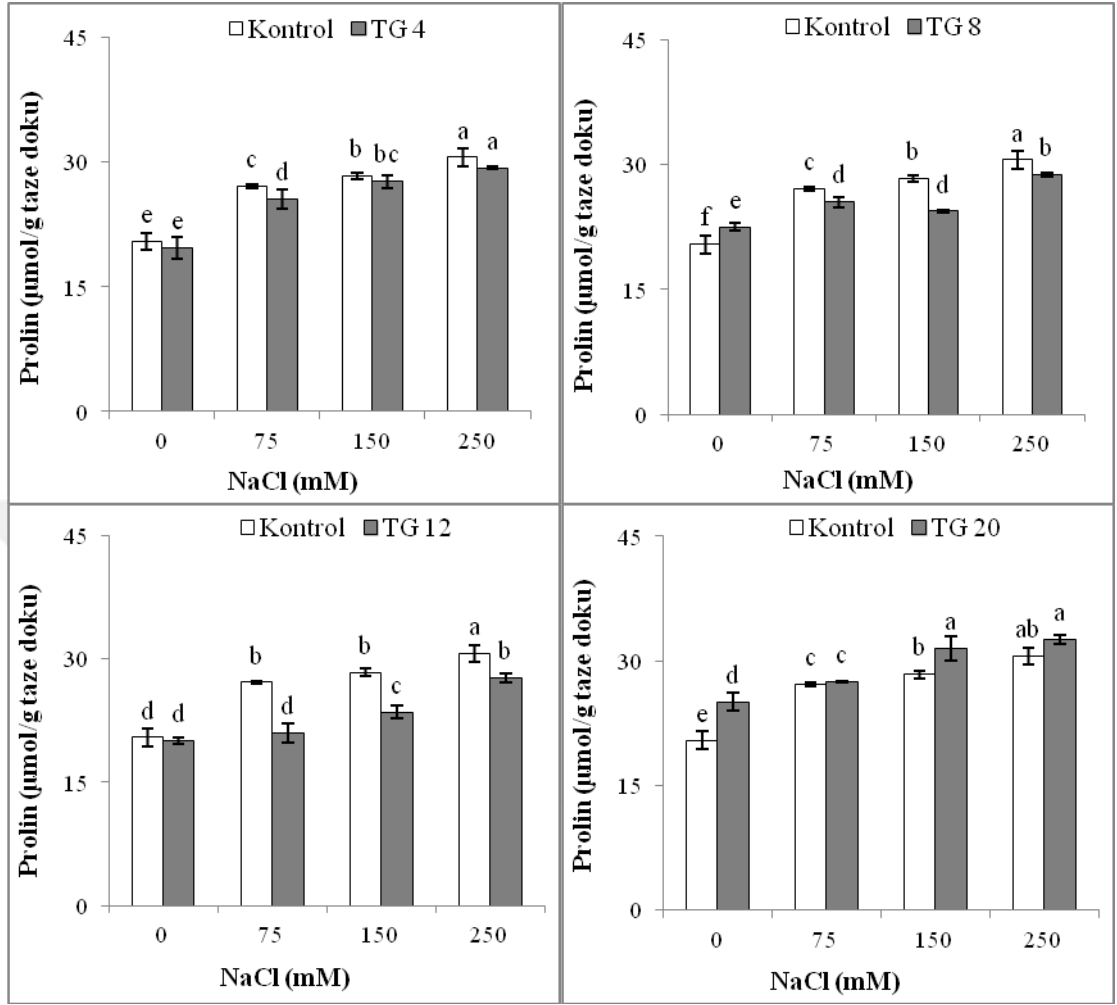
Kontrol bitkilerinde (0.0 mM) $20.45 \mu\text{mol.g}^{-1}$ olan prolin miktarı tuz uygulamalarıyla birlikte periyodik bir artış göstermiştir (Çizelge 4.27 ve Şekil 4.26). Artan tuz uygulamalarından 75 mM tuz uygulaması kontrolü ile karşılaştırıldığında %33'lük bir artışla $27.14 \mu\text{mol.g}^{-1}$, 150 mM tuz uygulaması %39'luk bir artışla $28.34 \mu\text{mol.g}^{-1}$ ve 250 mM tuz uygulamasında %50'lik bir artışla $30.58 \mu\text{mol.g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Tek başına bakteri uygulamalarında TG-4 ve TG-12 izolatları prolin içeriğinde kontrole göre önemsiz bir azalışa neden olmuşken, TG8 ve TG-20 izolatlarında ise önemli ($p < 0.05$) artışlara neden olmuşlardır. Bakteri+tuz uygulamalarında TG-20 kontrole göre tüm tuz

uygulamalarında prolin miktarında artış sağlamışken diğer bakteri uygulamaları ise azalışlara neden olmuştur (Çizelge 4.27 ve Şekil 4.26).

Çizelge 4.27. Prolin miktarı bulguları (µmol/g taze doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	20.45±1.06	27.14±0.20	28.34±0.44	30.58±1.01
TG-4	19.72±1.32	25.52±1.19	27.69±0.79	29.32±0.20
TG-8	22.53±0.50	25.52±0.59	24.43±0.20	28.77±0.20
TG-12	20.08±0.39	20.99±1.14	23.52±0.75	27.68±0.52
TG-20	25.05±1.05	27.44±1.1	31.48±1.50	32.57±0.52

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.26. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

4.12. Klorofil a, Klorofil b ve Total Klorofil Miktarı Bulguları

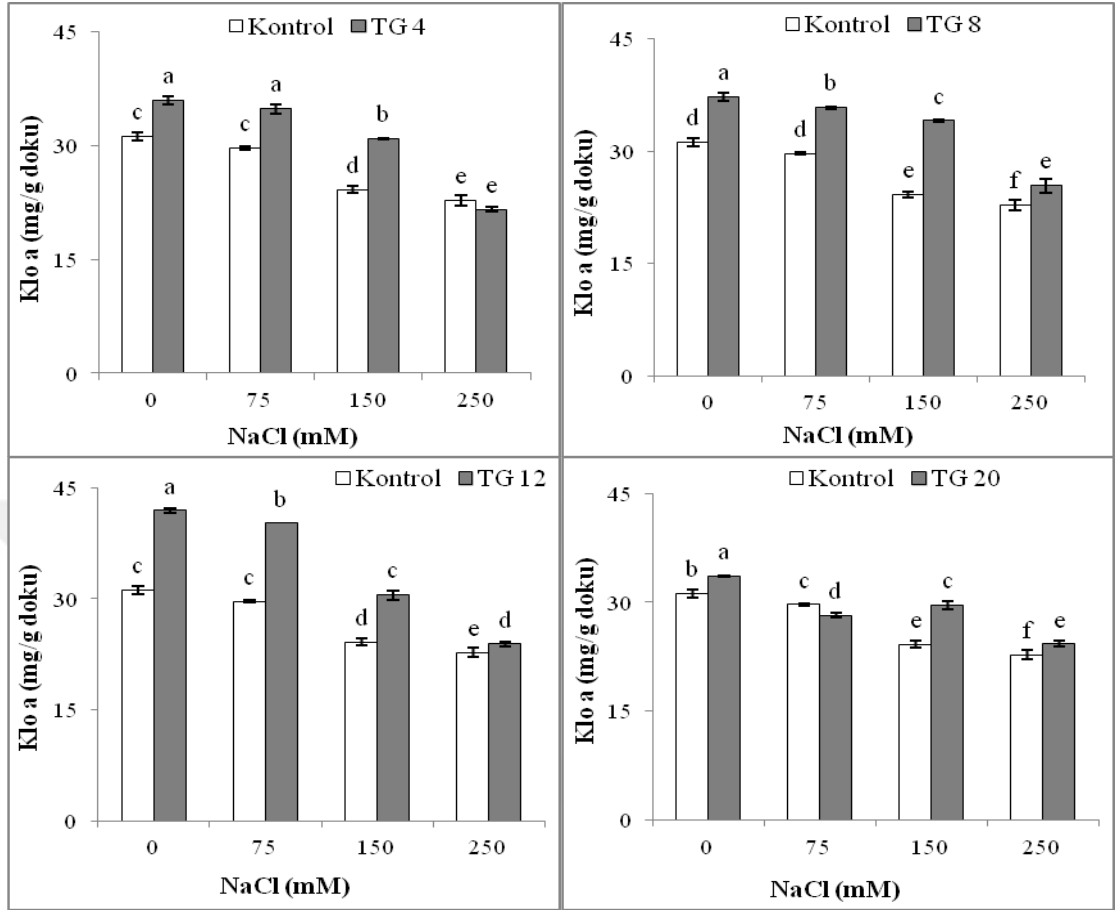
Tek başına tuz uygulamaları kontrole göre klorofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktarlarını artıran tuzla birlikte istatistiki olarak önemli derecede ($p < 0.05$) düşürmüştür. Sadece bakteri uygulanmış gruplar total klorofil, klorofil-a ve klorofil-b miktarlarını kontrole göre istatistiki olarak önemli ($p < 0.05$) oranda artırmıştır. Yalnızca TG-4 izolatu kontrole (0.0 mM) göre total klorofil miktarını değiştirmezken klorofil b miktarını ise %24 oranında düşürmüştür. Bakteri+tuz uygulanmış gruplar kontrolleriyle karşılaştırıldığında tüm tuz uygulamalarında genel olarak klorofil a miktarının artışına

neden olmuşlardır. Sadece 250 mM tuzda TG-4 izolatu kontrole göre klorofil a miktarını %5 oranında düşürmüştür. Bakterili tuz uygulamalarında klorofil a miktarı bakımından en iyi artışlar 150 mM tuz uygulamasında görülmüş olup bu artışlar TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20 izolatlarında sırasıyla %28, %41, %26 ve %22 oranlarında olmuştur (Çizelge 4.28 ve Şekil 4.27). Bakterili tuz uygulamalarında klorofil b miktarı bakımından kontrole göre TG-12 izolatu 150 ve 250 mM tuzda sırasıyla %36 ve %51, TG-20 izolatu ise 250 mM tuzda %8 oranında artış göstermiştir. Diğer bakteri uygulamaları ise kontrollerine göre azalışlara neden olmuştur (Çizelge 4.29 ve Şekil 4.28). Total klorofil miktarı bakımından bakterili tuz uygulamaları genellikle kontrole göre artış göstermiştir. Sadece 75 mM tuzda TG-20, 250 mM tuzda ise TG-4 ve TG-8 izolatu kontrollerine göre total klorofil miktarlarında azalışa neden olmuştur. Total klorofil miktarı bakımından özellikle TG-12 izolatu artan tuz uygulamalarında (75, 150 ve 250 mM) sırasıyla %21, %30 ve %22 oranlarında artışa neden olmuştur (Çizelge 4.30 ve Şekil 4.29).

Çizelge 4.28. Klorofil-a miktarı bulguları (mg/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	31.19±0.50	29.68±0.16	24.19±0.44	22.78±0.66
TG-4	36.00±0.52	34.86±0.62	30.87±0.10	21.60±0.29
TG-8	37.22±0.50	35.80±0.16	34.07±0.15	25.41±0.93
TG-12	41.92±0.35	40.19±0.06	30.51±0.65	23.90±0.34
TG-20	33.53±0.10	28.20±0.35	29.56±0.57	24.24±0.41

*± standart hatayı ifade eder



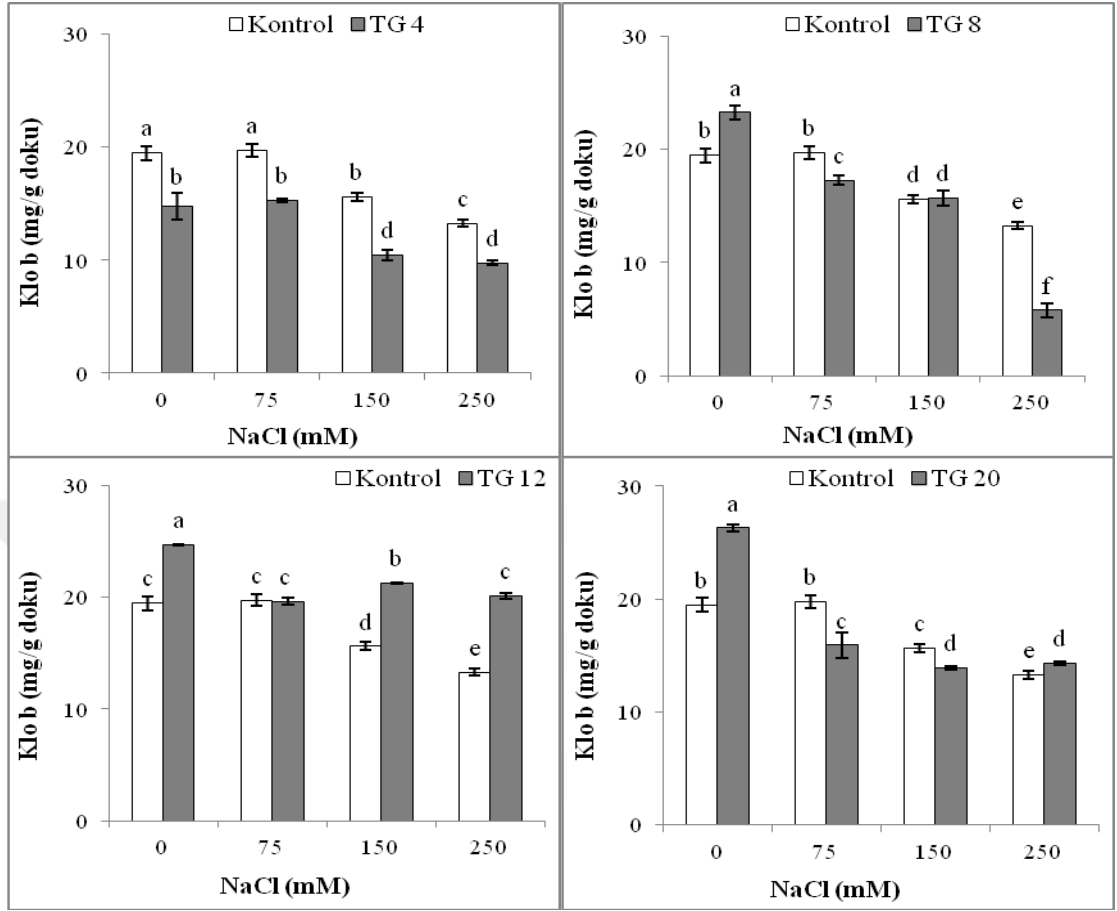
Şekil 4.27. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının klorofil a miktarı üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.29. Klorofil b miktarı bulguları (mg/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	19.48±0.62	19.73±0.54	15.61±0.36	13.27±0.31
TG-4	14.79±1.16	15.27 ±0.19	10.42±0.44	9.75±0.23
TG-8	23.28±0.62	17.29±0.41	15.68±0.68	5.79±0.59
TG-12	24.66±0.04	19.64±0.28	21.25±0.09	20.10±0.23
TG-20	26.29±0.27	15.90±1.17	13.88±0.16	14.32±0.14

*± standart hatayı ifade eder



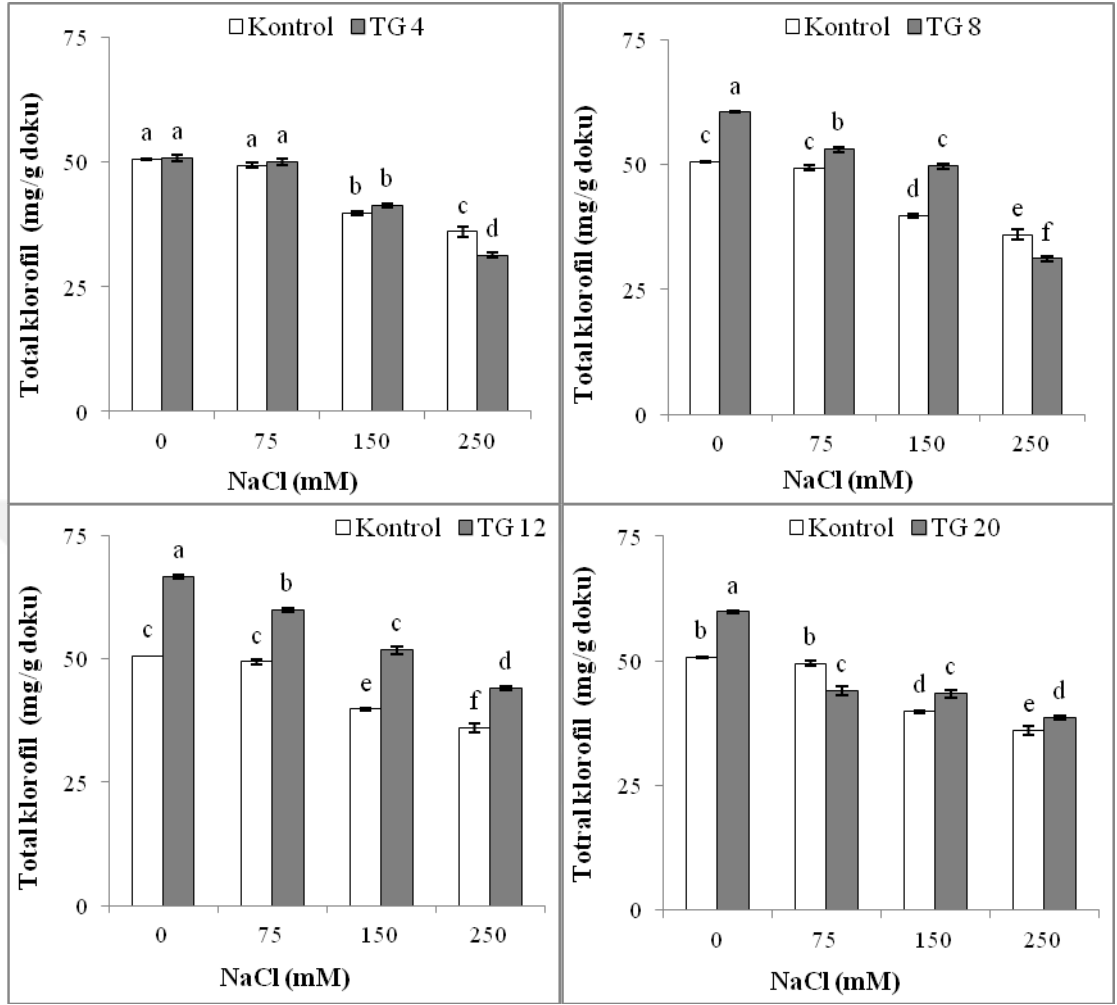
Şekil 4.28. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının Klorofil-b miktarına etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.30. Total klorofil miktarı sonuçları (mg/g doku)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	50.66±0.12	49.40±0.51	39.79±0.32	36.04±0.94
TG-4	50.77±0.63	50.12±0.71	41.28±0.39	31.34±0.51
TG-8	60.49±0.12	53.09±0.56	49.74±0.56	31.19±0.47
TG-12	66.56±0.39	59.81±0.34	51.75±0.75	43.99±0.40
TG-20	59.80±0.36	44.09±0.91	43.42±0.73	38.54±0.44

*± standart hatayı ifade eder



Şekil 4.29. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının total klorofil üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

4.13. Nitrat Redüktaz (NR) Aktivitesi Sonuçları

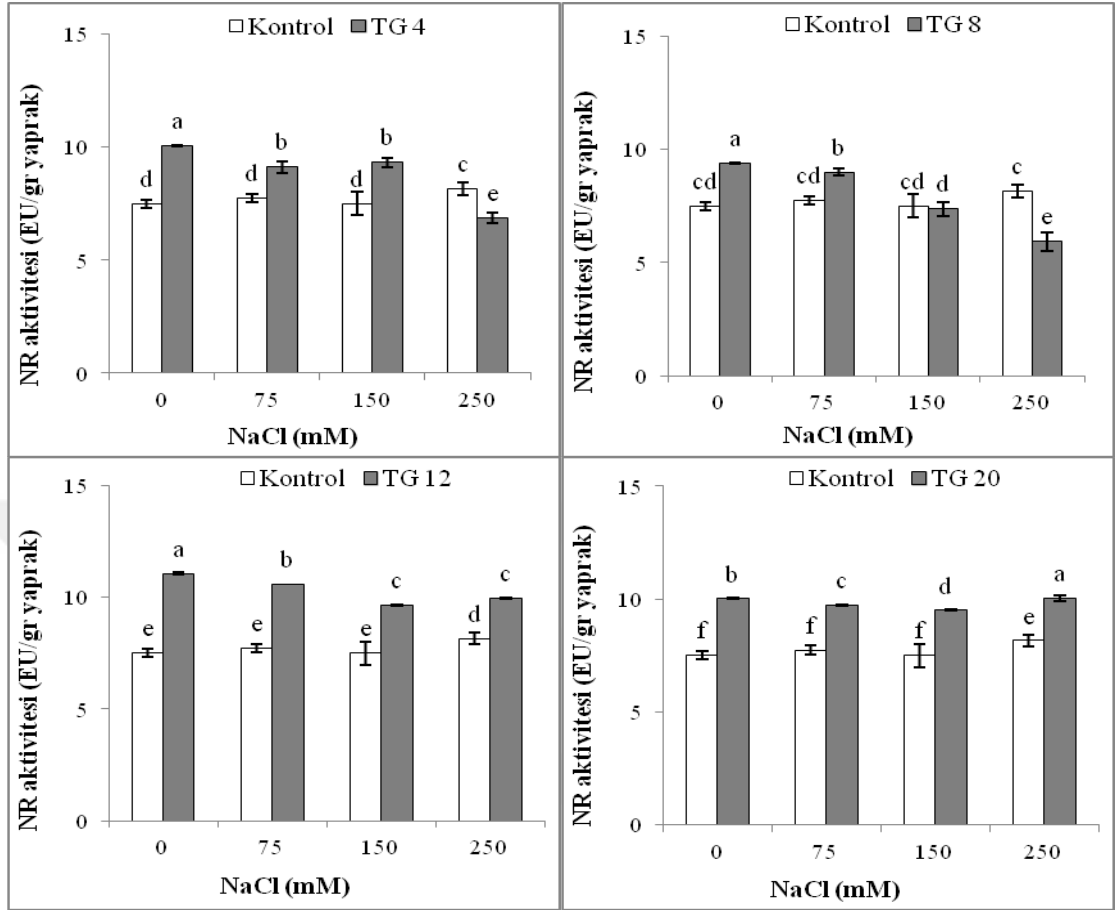
NR aktivitesi sadece tuz uygulanmış gruplarda kontrole göre istatistiksel olarak önemli oranda ($p < 0.05$) artmıştır. Kontrol bitkisinin yapraklarındaki NR aktivitesi 7.50 EU.g^{-1} iken, 250 mM tuz uygulamasıyla bu değer %9'luk bir artışla 8.16 EU.g^{-1} olarak belirlenmiştir. Kontrol bitkisinin köklerinde ise 8.86 EU.g^{-1} olan NR aktivitesi 250 mM tuz uygulamasıyla %6'luk bir artışla 9.53 EU.g^{-1} olarak bulunmuştur. Bakteri ile beraber tuz uygulamaları yaprakta NR aktivitesini genelde artırırken kökte ise önemsiz düşüşlere neden olmuştur ($p < 0.05$). Örneğin 75 mM tuz uygulanmış bitki yapraklarında TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20 izolatları kontrole göre sırasıyla %14, %13, %32 ve %22

oranlarında artışa neden olmuştur. Yine 150 mM tuz şartlarında TG-4, TG-12 ve TG-20 izolatları kontrol bitkisine göre sırasıyla %24, %29 ve %27 oranlarında artış gösterirken TG-8 izolatu ise %2 oranında bir azalış göstermiştir. TG-12 ve TG 20 izolatları 250 mM tuz koşullarında artış gösterirken, TG-4 ve TG-8 izolatu ise azalış göstermiştir. Bakteri uygulamaları tuzlu şartlarda kökteki NR aktivitesi miktarını önemsiz seviyede düşürmüştür (Çizelge 4.31, 4.32 ve Şekil 4.30, 4.31)

Çizelge 4.31. Yaprakta NR aktivitesi bulguları (EU/g yaprak)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	7.50±0.36 ^{Bd}	7.74±0.37 ^{ABc}	7.50±1.04 ^{Bb}	8.16±0.52 ^{Ab}
TG-4	10.06±0.06 ^{Ab}	9.12±0.49 ^{Bb}	9.33±0.41 ^{Ba}	6.87±0.44 ^{Cbc}
TG-8	9.41±0.06 ^{Ac}	9.00±0.28 ^{ABb}	7.38±0.63 ^{Cb}	5.94±0.83 ^{Dc}
TG-12	11.05±0.10 ^{Aa}	10.59±0.04 ^{Ba}	9.65±0.03 ^{Da}	9.94±0.04 ^{Ca}
TG-20	10.00±0.05 ^{Ab}	9.73±0.04 ^{ABab}	9.49±0.05 ^{Ba}	10.02±0.24 ^{Aa}

*± standart hatayı ifade eder



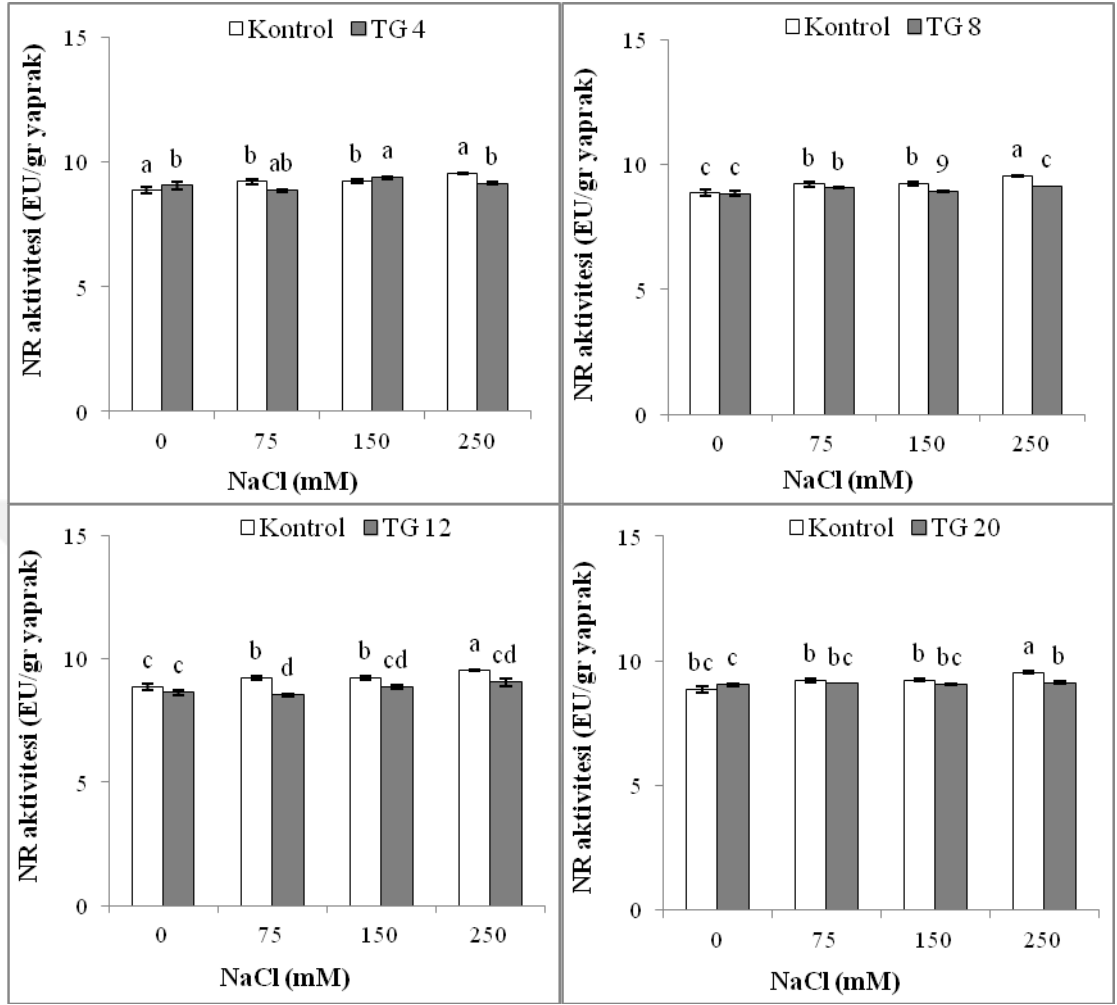
Şekil 4.30. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının yapraklarda NR aktivitesine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

Çizelge 4.32. Kökte NR aktivitesi bulguları (EU/g yaprak)

Gruplar	NaCl (mM)			
	0.0	75	150	250
Kontrol	8.86±0.13 ^{Cab}	9.21±0.09 ^{Ba}	9.22±0.07 ^{Ba}	9.53±0.03 ^{Aa}
TG-4	9.06±0.17 ^{ABa}	8.86±0.04 ^{Bb}	9.37±0.05 ^{Aa}	9.15±0.06 ^{ABb}
TG-8	8.84±0.10 ^{Cab}	9.06±0.03 ^{ABa}	8.93±0.03 ^{BCbc}	9.12±0.01 ^{Ab}
TG-12	8.64±0.10 ^{Bb}	8.53±0.05 ^{Bc}	8.87±0.07 ^{ABc}	9.06±0.16 ^{Ab}
TG-20	9.03±0.05 ^{Aab}	9.08±0.02 ^{Aa}	9.05±0.03 ^{Ab}	9.12±0.07 ^{Ab}

*± standart hatayı ifade eder

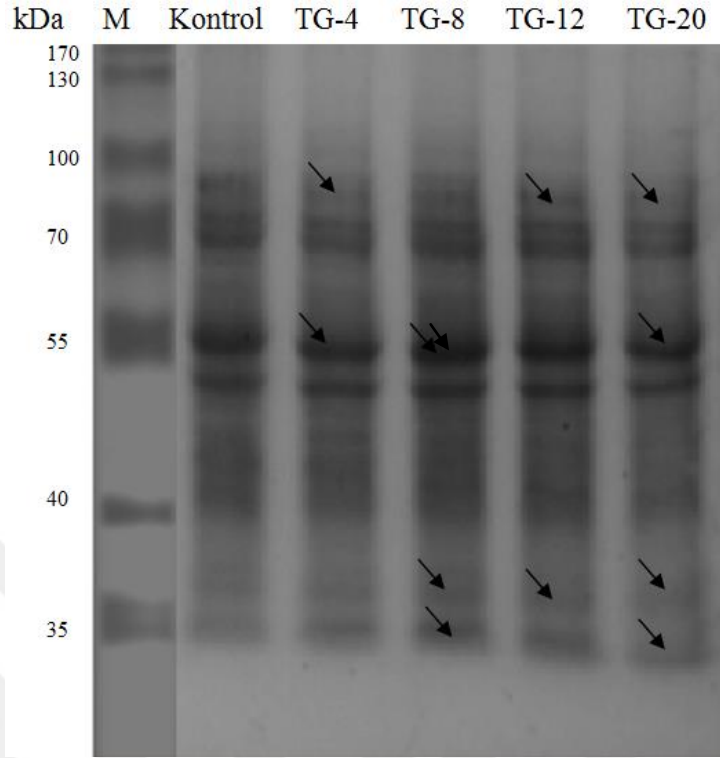


Şekil 4.31. Tuz ve bakteri+tuz uygulamasının kökte NR aktivitesi üzerine etkisi

*Aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma testine göre $p < 0.05$ önem seviyesinde anlamsızdır

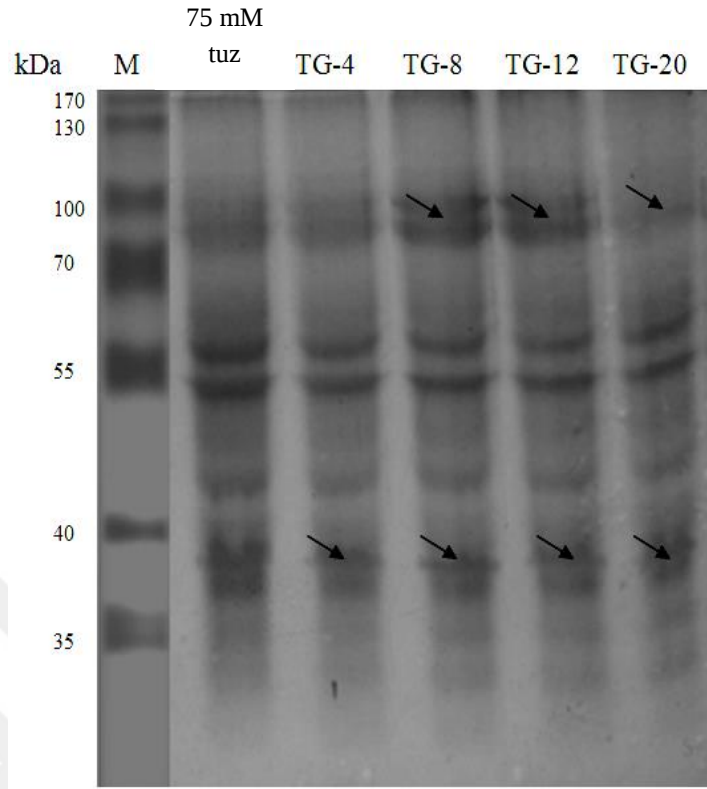
4.14. Proteinlerin SDS-PAGE ile Değerlendirilmesine Ait Bulgular

Bir SDS-PAGE jelinde tüm tuz uygulamalarına ve bakteri+tuz gruplarına ait bulguların verilmesi mümkün olmadığından, bulgular jellerde her bir tuz uygulaması için ayrı gruplar halinde sunulmuştur. Bakteri uygulaması yapılmış ve yapılmamış bitki yapraklarından elde edilen SDS-PAGE jel sonuçları standart proteinlerle kıyaslandığında polipeptit moleküler ağırlıklarının yaklaşık 35 ile 100 kDa arasında olduğu belirlenmiştir.



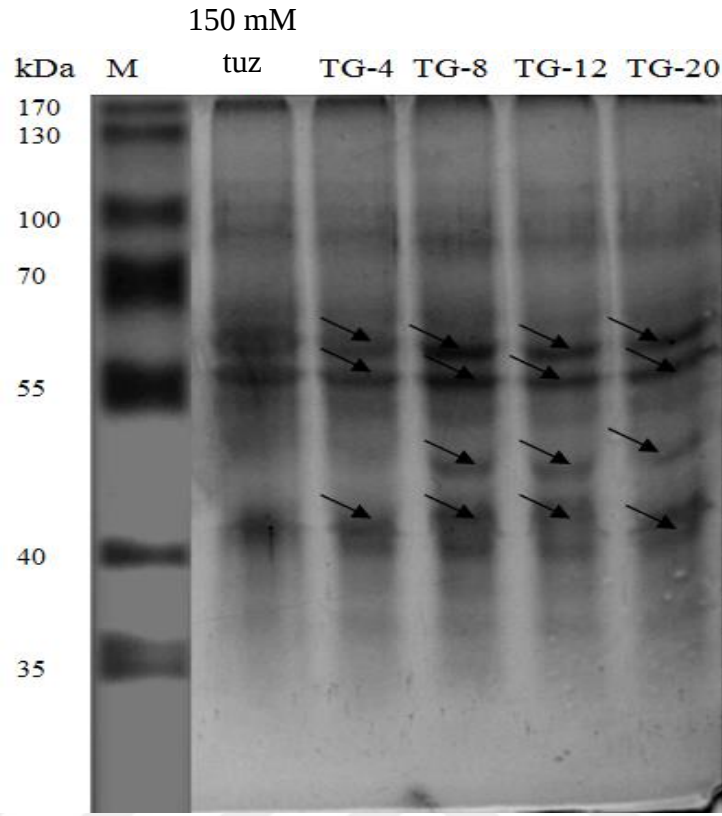
Şekil 4.32. Tek başına bakteri izolatları uygulanmış mısır yapraklarına ait çözünebilir proteinlerinin profili

Şekil 4.32’de kontrol (0.0 mM) grupların polipeptit jel görüntüleri verilmiştir. Proteinlerin SDS-PAGE sonuçları standart proteinlerle karşılaştırıldığında, polipeptidlerin büyüklüklerinin yaklaşık 35 ile 100 kDa arasında olduğu görülmektedir. Bakteri uygulamalarında meydana gelen bant kalınlıkları, özellikle 50 ile 100 kDa arasında kontrole göre daha yoğun olduğu görülmüştür. Kontrole göre 55 kDa olan bant kalınlığı TG-8 ve TG-12 izolatları uygulamasıyla şiddetini artırdığı, TG-4 ve TG-20 izolatları uygulamalarında ise şiddetinde hafif bir azalma olduğu görülmektedir. Ayrıca kontrolede 70 ile 100 kDa arası bant şiddetinde TG-4, TG-12 ve TG-20 uygulamalarında şiddetinin azaldığı dikkat çekmektedir.



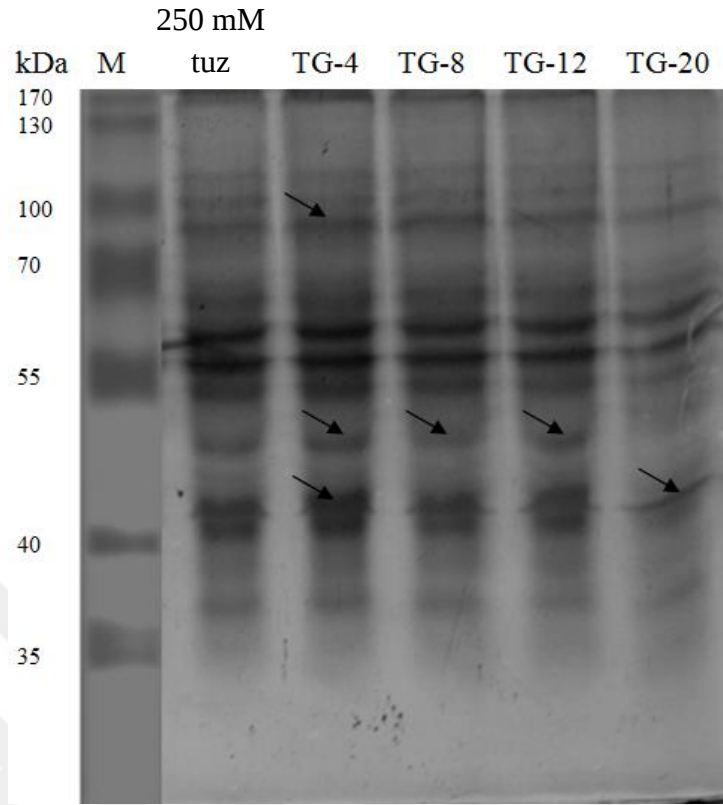
Şekil 4.33. Kontrol olarak 75 mM tuz ve bakteri+75 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında proteinlerin profili üzerine etkileri

Şekil 4.33’de 75 mM tuz uygulaması yapılmış kontrol ve bakteri+tuz grupların jel elektroforez fotoğrafları sunulmuştur. Genel olarak gruplarda 35 ile 100 kDa arasında bant oluştuğu görülmüştür. Kontrole göre 70 ile 100 kDa arasında görülen bant şiddetinin TG-8 ve TG-12 uygulamalarında arttığı, TG-20 uygulamasında ise azaldığı dikkat çekmektedir. Ayrıca 35-40 kDa arası bantlar ile 55 kDa olan bandın şiddetinin kontrole göre tüm bakteri uygulamalarında azaldığı görülmektedir.



Şekil 4.34. Kontrol olarak 150 mM tuz ve bakteri+150 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında çözünebilir proteinlerinin profili üzerine etkileri

Şekil 4.34’de 150 mM tuz uygulanmış kontrol ve bakteri+tuz gruplara ait jel fotoğrafları görülmektedir. Genel olarak 40 ile 100 kDa arasında bant oluşumu gözlenmiştir. Kontrolde 55 ile 70 kDa arası oluşan bantların şiddetinin bakteri uygulamalarında azaldığı görülmektedir. Kontrolde 40 kDa olan bant şiddeti ise bakteri uygulamalarında arttığı görülmektedir. Ayrıca kontrole göre 40 ile 55 kDa arasında TG-8, TG-12 ve TG-20 bakteri uygulamalarıyla yeni bant oluşumu görülmüştür.



Şekil 4.35. Kontrol olarak 250 mM tuz ve bakteri+250 mM tuz uygulamasının mısır yapraklarında çözünebilir proteinlerinin profili üzerine etkileri

Şekil 4.35’de 250 mM tuz uygulanmış kontrol ve bakteri+tuz gruplara ait jel fotoğrafları görülmektedir. Genel olarak 35 ile 100 kDa arasında bant oluşumu gözlenmiştir. Özellikle 55 ile 100 kDa arasında diğer tuz uygulamalarına göre daha fazla bant oluşumu göze çarpmaktadır. Kontrole göre 40 kDa ağırlığındaki bant şiddeti TG-4 uygulamasında artmışken, TG-20’de ise azalmıştır. Diğer bakteri uygulamalarında bant şiddetlerinde artış ve azalışlar görülmektedir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, Tuz Gölü havzasında yaşayan bazı halofit bitkilerin rizosferlerinden izole edilen halotolerant bakterilerin, mısır bitkisinde tuz stresi toleransına etkileri araştırılmıştır. Belirlenen hedeflere ulaşmak için birçok fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılmıştır. Amaca yönelik olarak, farklı konsantrasyonlarda (75, 150, 250 mM) tuz stresine maruz kalan mısır yapraklarında canlılık testi, lipid peroksidasyon seviyesi, prolin ve ROT miktarları incelenmiştir. Ayrıca enzimatik (CAT, SOD, POX, APX ve GR) ve enzimatik olmayan (AsA ve GSH) antioksidanların seviyeleri ve kök/gövde uzunluğu, kuru madde ağırlığı, mineral (Na, K ve Ca) ve klorofil miktarları belirlenmiştir. Bunlara ilave olarak yapraklarda çözünebilir proteinlerin SDS-PAGE profilleri ve kök ile yaprakta nitrat redüktaz (NR) aktivitesi de değerlendirilmiştir. Bu parametrelerden elde edilen bulguların değerlendirilmesine katkı olması amacıyla, izole edilen bakteri izolatlarının ACC deaminaz aktiviteleri ve azot fiksasyon yetenekleri de araştırılmıştır. Aşağıda elde edilen bulgular literatür verileri ile birlikte değerlendirilmiş ve tartışılmıştır. Tuz Gölü havzasının farklı lokasyonlarında bakteri izolasyonu yapılan bitkiler arasında tek yıllık (*Petrosimonia nigdeensis*, *Salicornia europaea*, *Lepidium perfoliatum* L., *Matricaria chamomilla*, *Thesium compressum*, *Consolida hellespontica* ve *Pandera pilosa*) iki yıllık (*Falcaria falcarioides* ve *Brassica elongata*) ve çok yıllık (*İnula aucheriana*, *Hedysarum varium*, *Silene salsuginea*, *Halocnemum strobilaceum*, *Peganum harmala*, *Achillea sieheana*, *Sphaerophysa kotschyana* ve *Puccinellia convoluta*) bitkiler bulunmaktadır. Kullanılan bitkilerin tür çeşitliliğinin fazla ve farklı olması, izole edilen bakteri tür ve izolat çeşitliliğini de artırmıştır.

Yapılan literatür incelemelerinde Tuz Gölü havzasında rizobakteri izolasyonu için kullanılan bitkiler ile ilgili şu ana kadar yapılmış benzer bir çalışma mevcut değildir. Yapılan araştırmalar, genel olarak bu bitkilerin sistematik ve ekofizyoloji üzerine olmuştur (Masoudi *et al.* 2005; Tıprıdamaz vd 2010; Soleimanpour *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2015). Örneğin Furtuna (2010), Tuz Gölü çevresinde yetişen 30 endemik halofit bitkinin tuza uyum mekanizmaları, fotosentetik pigment, organik ve inorganik madde miktarlarındaki değişimleri inceleyen bir araştırma yapmıştır. İncelenen parametre

miktarlarının özellikle son çiçeklenme döneminde azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca toprak özelliklerinin bitkiye yansıdığını ve bitki dağılımına etki ettiğini bildirmiştir. Bununla birlikte çalışılan halofit bitki türlerinin fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri ile alakalı araştırmalar da mevcuttur. Örneğin *Peganum harmala* bitki yapraklarından elde edilen ekstraktın antibakteriyal, antiviral ve antioksidan özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Hayet *et al.* 2010; Lamchouri 2014). Benzer şekilde yapılan bir araştırmada *Petrosimonia nigdeensis* bitkisinin gövde, yaprak ve kökünden elde edilen özütün antimikrobiyal ve antifungal etkisin olduğu, bu nedenle gıda ve ilaç sanayide kullanılabileceği rapor edilmiştir (Özüsağlam *et al.* 2015). Türkiye için endemik olan *Sphaerophysa kotschyana* ile yapılan diğer bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (0.0, 150 ve 300 mM) tuz stresine maruz bırakılan bitkide meydana gelen antioksidan enzim miktarları, ROT seviyeleri ve oksidatif stres parametreleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, bitkinin orta şiddette (150 mM) tuza toleranslı olduğunu göstermiştir (Yıldızıtugay *et al.* 2013). *Matricaria chamomilla* hem geleneksel hem de modern tıp uygulamalarında kullanılan bir bitki türü olması nedeniyle, mevcut bitkiler arasında literatürlerde hakkında en fazla çalışma yapılmış ve bu bağlamda özellikle bitkiden elde edilen esansiyel yağlar kullanılmıştır (Dadkhah 2010; Czepas *et al.* 2015). Shi *et al.* (2015), *Salicornia europaea* bitkisinin rizosferinden ve rizosfer toprağından halofil bakteri izolasyon ve identifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Yapılan bir araştırmada *Falcaria falcarioides* bitkisinden elde edilen yağın içeriği incelenmiştir (Masoudi *et al.* 2005). *Puccinellia convoluta* ile ilgili sadece taksonomik bir çalışma mevcutken (Bogdanovic *et al.* 2012), *Thesium compressum* ile ilgili hiçbir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada halotolerant bakteri izolasyonu, bitkilerin rizosferinden gerçekleştirilmiştir. Literatürde birçok çalışmada bitki köklerinden bakteri izolasyonu yapılmış ve bu bakteriler diğer bitkilerin büyüme ve gelişmesi amacıyla kullanılmıştır. Bu tip bakterilere bitki büyümesini teşvik eden rizobakteriler (PGPR) adı verilmiştir (Nadeem *et al.* 2006; Ansary *et al.* 2012; Zarmehri *et al.* 2013). Yapılan detaylı literatür incelemelerinde, çalışmamızda kullanılan bakteri türleri üzerinde bu çalışmadakine benzer bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Belirlenen bazı çalışmalar da genellikle

bakterilerin izolasyon ve identifikasyonu ile alakalıdır (Haba *et al.* 2010; Jiang *et al.* 2013; Kheiralla *et al.* 2013). Bir bakterinin halotolerant veya halofit olduğunu test etmek için literatürde önerilen farklı tuz yoğunluğuna sahip besi yerleriyle yapılan çalışmalara göre (Çizelge 3.2), izole edilen bakteri türleri halotolerant olarak değerlendirilmiştir. Bakterilerin ve onlara ait izolatların halotolerant olması, hem mevcut çalışma için, hem de potansiyel olarak tarımda kullanılabilmeleri için önemlidir. Çünkü bu izolatların uygulanacağı bitki topraklarının her zaman yüksek tuz içeriğine sahip olamayacağından, izolatların toprakta rekabet şanslarını artıracaktır. Diğer taraftan elde edilen izolatların 75, 150 ve 250 mM NaCl içeren kültür şartlarında gelişmeleri, çalışmada kullanılan tuzlu ortamlarda da gelişebildiklerini göstermektedir (Çizelge 3.2).

Çalışmada farklı tuz koşullarında yetiştirilen mısır tohumlarına inoküle edilen bakteri izolatları, kök ve gövde uzunluğu üzerine genellikle olumlu etki yapmıştır. Bakteri uygulamalarından özellikle TG-4, TG-8 ve TG-12 gövde uzunluğunu tüm tuz uygulamalarında kontrole göre artırmıştır. Ancak kök uzunluğunda sadece TG-8 izolatı kontrole göre tüm tuz uygulamalarında kök uzunluğunda istatistiki olarak önemli olmayan artışa neden olmuştur. (Çizelge 4.4, 4.5 ve Şekil 4.3, 4.4). Literatürde PGPR grubu bakterilerle yapılan çalışmalarda bakteri uygulamalarının bitki kök ve gövde uzunluğunu artırdığına dair bilgiler mevcuttur. Örneğin, farklı kaynaklardan (toprak, bitki gibi) izole edilmiş bakteri örnekleri (*Halomonas* sp., *Halobacillus* sp.) tuz stresine maruz kalmış *Triticum aestivum* (buğday) bitkisine uygulanması ile bitki uzunluğunda ve kuru ağırlığında artışlara neden olmuştur (Rajput *et al.* 2013; Ramadoss *et al.* 2013). Ayrıca dokularda K^+/Na^+ oranını da artırmıştır (Afrasayab *et al.* 2010). Benzer şekilde tuz stresine uğramış nohut (Qurashi and Sabri 2012), tuz ve ağır metal stresine tabi tutulmuş *Sesuvium portulacastrum* (Desale *et al.* 2014) ve sıcaklık ile tuz streslerine maruz kalmış mung fasulyesinde (Walpola *et al.* 2014) farklı PGPR bakterilerinin uygulanması bitki kök ve gövde uzunluğu ile kuru ağırlıklarında artışa neden olmuştur. Bizim izolatlar içerisinde bu çalışmalara en uygun veri TG-4, TG-8 ve TG-12 izolatlarından elde edilmiştir.

Bulgulara göre, bakteri uygulamaları tuzlu koşullarda, tek başına tuz uygulanmış kontrole göre, mısırdaki kuru ağırlık miktarını artırmıştır (Çizelge 4.6, 4.7 ve Şekil 4.5, 4.6). Gövde kuru ağırlık bakımından hemen hemen tüm bakteri uygulamaları kontrole göre artışlar göstermiş olmasına rağmen, kök kuru ağırlığında bakteri uygulamaları ve tuz uygulamaları değişkenlik göstermiştir. Örneğin TG-4 ve TG-8 tüm tuz uygulamalarında kontrole göre kök kuru ağırlığında artışa neden olmuşken, TG-12 izolatu 150 ve 250 mM tuzda, TG-20 ise 75 ve 250 mM tuz uygulamalarında artışa neden olmuştur. Farklı kaynaklardan elde edilen *Pseudomonas* sp. bakterileri tuzlu şartlar altında yetiştirilen domates (Anitha and Kumudini 2014), buğday (Zahir *et al.* 2009) ve mısır (Ahmad *et al.* 2014) bitkilerine inoküle edilmiş ve inokülasyon olmayan kontrol gruplarına göre kök ve gövde kuru ağırlıklarında artış kaydedilmiştir. Bu çalışmada ise bazı bakteri izolatları, özellikle gövde kuru ağırlık üzerinde olumsuz etki yapmıştır. Ancak bu durum stres etkisinin kalmasına da işaret edebilir. Çünkü tuzlu ve kurak koşullarda, bir adaptasyon olarak, bitkilerde kök gelişimi artırılırken, gövde gelişimi düşürülür. Bu etkiyi özellikle ABA hormonu uyarır. Stres etkisi kalkan bitkilerde ise kök gelişiminin düşürüldüğü ve aksine gövde gelişiminin artırıldığı belirlenmiştir (Taiz and Zeiger 2008). Buna göre bazı izolatların mısırdaki kök uzunluğu ve kök kuru ağırlığında düşüşe neden olması, tuz stresi etkisinin azaltıldığına işaret edebilir.

Birçok stres faktöründe olduğu gibi tuz stresinde de membran bütünlüğünün zarar görmesinden dolayı membran hasarı (MH) meydana gelir. MH elektrik konduktivimetre (EC) tekniğiyle belirlenmektedir. Bu teste canlılık testi de denmektedir (Sese and Tobita 1998; Yağmur 2008; Babalık 2012). Tuz stresine maruz kalan bitkilerde membran geçirgenliğinin arttığına dair birçok araştırma mevcuttur (Yağmur 2008; Kaya *et al.* 2010; Abd El-Azeem *et al.* 2012). Kaya *et al.* (2013), tuz stresine maruz kalmış mısır bitkisinde MH'nin kontrol grubuna göre %100 oranında artış sağladığını rapor etmişlerdir. Bano and Fatima (2009), *Rhizobium* ve *Pseudomonas* türü bakterileri inoküle ettikleri mısır bitkilerini tuzlu şartlar altında yetiştirdiklerinde her iki bakterinin ayrı ayrı inoküle edilmesi, MH üzerine önemli bir etki yapmazken, birlikte inoküle edildiği gruplarda ise MH kontrole göre önemli derecede düşmüştür. Tuz stresine maruz

kalmış mısır bitkisine *Glomus mosseae* türü mantar inokülasyonu yapılmış ve inoküle edilmemiş kontrol grubundan daha düşük seviyede MH miktarı olduğu bildirilmiştir (Feng *et al.* 2002). Bu çalışmada artan tuz konsantrasyonları mısır yapraklarındaki MH'nı önemli ölçüde artırmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.7). Bakteri inoküle edilmiş tüm uygulamalarda (0.0, 75, 150 ve 250 mM) kontrollerine göre MH'yi düşürmüştür. Sadece TG-4 izolatu 250 mM tuz uygulamasında önemsiz bir artışa neden olmuştur. TG-4, TG-12 ve TG-20 izolatları kontrollerine göre MH'nı en fazla 150 mM tuz uygulamasında düşürürken (sırasıyla %3, %17, %8), TG-8 ise 250 mM tuz uygulamasında %19'luk bir azalış göstermiştir. Bakteri grupları içerisinde tüm tuz uygulamalarında kontrollerine göre MH'na en iyi etkiyi artan konsantrasyonlarda (75, 150 ve 250 mM) sırasıyla %10, %12 ve %19 oranında azalış gösteren TG-8 izolatının yaptığı görülmüştür. Bu verilere göre bakteri izolatlarından TG-4, TG-8, TG-12 ve TG-20'nin MH üzerinde olumlu etki yaptıkları ve bu nedenle PGPR olma potansiyellerinin olduğu ileri sürülebilmektedir.

Literatürlerde artan stresle birlikte bitki besin elementlerinin miktarlarında gerek kök ve gerekse de gövdede değişimler meydana geldiğini gösteren birçok araştırma mevcuttur (Hamdia *et al.* 2004; Masour *et al.* 2005; Marulanda *et al.* 2010; Abd El-Azeem *et al.* 2012). Tuzlu şartlara maruz kalan bitkilerde de kök ve gövde dokularında Na^+ miktarının arttığı, aksine K^+ ve Ca^{+2} seviyelerinin düştüğü birçok çalışmada belirlenmiştir (Karlıdağ *et al.* 2013; Kaya *et al.* 2013). Artan Na^+ ise bitkide ozmotik ve toksik etki yaparak hasara neden olmaktadır (Pardo and Quintero 2002; Tavakkoli *et al.* 2011). Bu nedenle özellikle toprak üstü dokularda Na^+ miktarının toksik etkisi artan K^+ iyonu ile giderilebilmektedir. K^+ iyonu hem bir esas element hem de Na^+ göre artışı toksik değildir (Heidari and Jamshid 2010). Bu çalışmada artan tuz seviyelerinde kök ve gövdede Na^+ miktarında önemli artışlar belirlenmiştir (Çizelge 4.9, 4.10 ve Şekil 4.8, 4.9). Ancak aynı tuz uygulamaları K^+ ve Ca^{+2} iyonlarının seviyesini gövdede düşürürken, kökte ise artırmıştır (Çizelge 4.11, 4.12, 4.13, 4.14 ve Şekil 4.10, 4.11, 4.12, 4.13). Bu sonuç literatür verileri ile uyumludur. Bakteri izolatları uygulanmış gruplarda ise farklı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin TG-4 ve TG-12 izolatları gövdede tuz uygulamalarıyla artan Na^+ miktarını önemli ölçüde düşürmüştür (Çizelge 4.9, 4.10

ve Şekil 4.8, 4.9). Aynı bakteriler kökte ise anlamlı sonuç vermemişler ve genelde Na^+ seviyesinde artışlara sebep olmuşlardır. Kökte sadece TG-8 izolatu Na^+ miktarını düşürmüştür. Yaprak dokularında Na^+ içeriğinin düşürülmesi ve köklerde artması, bitkinin tuz stresine verdiği önemli bir cevap olarak değerlendirilmiştir. Kısaca, bakteri izolatlarının köklerde Na^+ iyonunun biriktirilmesine ve yukarıya yani gövde dokularına taşınmasının engellenmesine yol açtığı düşünülmektedir. Diğer taraftan dikkat edilirse tek başına tuz uygulamaları, kökte K^+ iyonunu artırırken gövdede düşürmüştür. Bu durum, tuz stresinin K^+ mobilitesini etkilediğini ve yukarı dokulara K^+ taşınımını engellediğini göstermektedir. Bakteri+tuz uygulamalarında TG-4 ve TG-12 izolatları gövdede K^+ seviyesini düşürürken, TG-4 ve TG-12 artırmıştır (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.10). Kökte ise tüm izolatlar özellikle yüksek tuz seviyelerinde K^+ iyonu seviyesini düşürmüşlerdir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.11). Bu verilere göre, bakteri uygulanmış gruplarda K^+ iyonunun kökten yukarıdaki dokulara mobilitesinde bir artış olduğu görülmektedir. Görüldüğü gibi bakteri uygulamaları genelde tuz stresi etkisinin tam tersini yapmıştır. Bu durum uygulanan izolatların bitkide Na/K dengesini bitki lehine çevirdiğinin bir göstergesidir. Bilindiği gibi Ca^{+2} 'de K^+ iyonu gibi esas bir element olup, bitki yaşamı için oldukça önemlidir. Çalışmada artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak gövdede Ca^{+2} iyonu düşmüş, ancak kökte ise önemli oranda artmıştır (Çizelge 4.13, 4.14 ve Şekil 4.12, 4.13). Bakteri uygulamaları ise özellikle 150 mM tuzda köklerde Ca^{+2} iyonunu düşürürken, gövdede ise artırmıştır. Bu sonuç bakteri uygulamalarının Ca^{+2} mobilitesini bitki lehine değiştirdiğini göstermektedir. Literatürde PGPR bakteri uygulamalarında elementlerin içeriği kök-gövde ayrımı yapılmadan genelde total olarak ölçülmüştür. Yine de yapılan çalışmalar bizim sonuçlarımızı desteklemektedir. Örneğin bir çalışmada, *Bacillus megaterium* tuzlu şartlarda yetiştirilen mısır bitkisine inoküle edilmiştir. Tuz uygulanmış kontrol gruplarında K^+ ve Ca^{+2} miktarlarında azalma, Na^+ miktarında ise artma meydana gelirken, bakteri uygulamaları K^+ ve Ca^{+2} miktarlarını artırmış, Na^+ miktarını ise düşürmüştür. (Marulanda *et al.* 2010). Yapılan bir başka araştırmada *Azotobacter chroococcum* inoküle edilmiş mısır bitkileri tuz stresine maruz bırakılmıştır. Artan tuz konsantrasyonu kontrol bitkilerinde Na^+ içeriğinde artışa neden olmuşken bakteri uygulamaları ise kök ve gövdede Na^+ miktarını azaltmıştır. Ayrıca bakteri uygulanmış gruplar kök ve gövdede K^+ iyonunda artışa neden olmuşlardır. Bakteri inokülasyonu

köklerde Ca^{+2} miktarını değiştirmezen gövdede ise artışına neden olmuştur. Bakteri inoküle edilen mısır bitkilerinde K^{+} alımı artırılarak Na^{+} alınımı azaltılmış ve böylece K/Na oranı artırılmıştır (Tapias *et al.* 2012). Nadeem *et al.* (2009), ACC deaminaz içeriğine sahip *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp. ve *Flavobacterium* sp. rizobakterileri ile yapmış oldukları bir araştırmada tuz stresi altındaki mısır bitkilerine bu bakterileri inoküle etmişlerdir. Stres şartları altındaki bitkilerde kontrolleri ile karşılaştırdıklarında K^{+} alımında artışa paralel olarak K/Na oranında da yüksek bir artış olduğunu bildirmişlerdir.

Tuz stresi nedeniyle içsel seviyeleri artan ROT'ların hücre zarında bulunan doymamış yağ asitlerinde oksidasyona (LPO) neden olduğu ve sonuçta membranlarda bu oksidasyonun bir ürünü olan malondialdehid (MDA) miktarının arttırdığına dair birçok araştırma mevcuttur (Baran 2011; Yıldıztuğay 2011; Karadağ 2013; Mir *et al.* 2015). Bu şalışmada da tuz stresi uygulamasında artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak MDA miktarının ve dolayısıyla LPO seviyesinin arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.15 ve şekil 4.14). Diğer taraftan, Abd El-Ghany *et al.* (2015), mısır bitkisi kök rizosferinden elde ettikleri *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter vinelandii* ve *Pseudomonas putida* bakterilerini, tuz stresine maruz kalmış mısır tohumlarına inoküle etmişlerdir. Kontrolüyle karşılaştırıldığında MDA miktarını en fazla düşüren *Pseudomonas fluorescens* olarak belirlenmiştir. Ağır metal stresi uygulanmış mısır bitkisine, stresin etkisini azaltmak amacıyla *Proteus mirabilis* türü bakteri inokülasyonu yapılmıştır. Tek başına bakteri uygulaması normal şartlarda yetiştirilen kontrolüne göre MDA miktarı bakımından bir değişikliğe neden olmamıştır. Fakat bakteri+metal stresi uygulaması tek başına metal stresi uygulanmış kontrolüne göre MDA miktarında önemli azalmalara neden olmuştur (İşlam *et al.* 2014b). Benzer sonuçlar tuz stresine maruz kalmış farklı bitkilerde de söz konusudur. Örneğin tuzlu şartlar altında yetiştirilen şilek bitkisinde stresin neden olduğu lipid peroksidasyonunu iyileştirmek için bitkilere bakteri kombinasyonu (*Bacillus seri*us+*Rhizobium radiobacter*) ile mikorizal fungus (*Glomus* sp.) hem ayrı ayrı hemde birlikte uygulanmıştır. Artan tuz uygulamalarıyla birlikte MDA miktarında meydana gelen artış uygulama yapılan gruplarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında daha az olmuştur. Farklı günlerde yapılan MDA miktarı

ölçümlerinde bakteri, mikorizal fungus ve bakteri+mikorizal fungus uygulamaları sonuçları değişkenlik göstermekle birlikte genel olarak ayrı ayrı yapılan uygulamalar kombine yapılan uygulamalardan daha iyi sonuçlar vermişlerdir (Koç 2015). Mevcut literatürler değerlendirildiğinde yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bakteri uygulamaları tüm tuz şartlarında MDA miktarını kontrollerine göre düşürmüştür (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.14). MDA miktarının azalmasına en fazla etkiyi TG-4, TG-12 ve TG-20 izolatları yapmıştır. Sadece TG-8 izolatı 75 mM tuz uygulamasında kontrole göre önemsiz bir azalış göstermiştir. Bu verilere göre, tuzlu koşullara maruz kalmış mısır bitkisine uygulanan bakteri izolatlarının LPO seviyesini düşürdüğü ve bitkiyi tuzun toksik etkisinden koruyabildiği ileri sürülebilir. Bu sonuç içsel element miktarlarından elde edilen sonuçlarla uyum içindedir. Yukarıda tuzluluğun LPO seviyesini artırdığı ancak bakteri uygulamalarının ise bu değeri düşürdüğü belirlenmiştir. Bu sonuca sebep olan en önemli faktörlerin başında ROT seviyesinin kontrolü gelir (Gill and Tuteja 2010). Bu nedenle MDA miktarının yanında hücrel ROT seviyelerinin de değerlendirilmesi önemlidir.

Bir ROT elemanı olan H_2O_2 seviyesinin artması, bitkide stres varlığının bir göstergesi olduğunu birçok araştırmacı rapor etmiştir (Piotrovskii *et al.* 2011; Turan *et al.* 2013; Yıldızıtugay *et al.* 2014). Bu çalışmada da tuz stresi uygulamasında artan tuz konsantrasyonlarına bağlı olarak mısır yapraklarında H_2O_2 seviyesinin arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.15). Bu sonuç tuz stresi etkisinin bir göstergesidir. Bakteri+tuz uygulamaları ise özellikle 150 ve 250 mM tuz uygulamalarında H_2O_2 miktarını kontrole göre düşürmüştür (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.15). Bu sonuca göre, çalışılan bakteriler tuz etkisiyle artan H_2O_2 miktarını düşürerek tuz stresi hasarını azalttığı yorumlanabilir. Literatürde yapılan çalışmayla birebir benzer bir çalışma bulunamamıştır. Ancak, Chen *et al.* (2014) domates tohumlarından elde ettikleri ACC-deaminaz aktivitesine sahip bakteri suşlarını, domatese inoküle ederek düşük sıcaklıktaki etkilerini araştırmışlardır. Stresin şiddetine bağlı olarak bitki yapraklarında artan H_2O_2 miktarı, bakteri uygulanan gruplarda uygulanmayanlara göre daha az bulunmuştur. Düşük sıcaklığa maruz buğday ve arpa bitkilerine inoküle edilen 4 farklı bakteri çeşitleri de benzer şekilde kontrole göre daha düşük H_2O_2 oluşumuna

neden olmuştur (Turan *et al.* 2013). Yaptığımız çalışma literatürlerdeki bulgulara benzer sonuçlar göstermiştir. Kaya *et al.* (2015), iki farklı kültür mısırını tuz stresine maruz bırakmışlardır. Stres her iki mısır çeşidinde de kontrole göre H_2O_2 miktarlarında önemli artışlara neden olmuştur.

Stres altındaki bitkilerde miktarı artarak hücrede ciddi hasarlara neden olan bir diğer ROT ise süperoksit ($O_2^{\bullet}$) radikalidir (Yıldızıtugay *et al.* 2014). Tuzlu şartlar altında (100 mM NaCl) yetiştirilmiş ayçiçeği (Ali *et al.* 2013), pamuk bitkisi (Dong *et al.* 2014) ve domates (Halo *et al.* 2015) yapraklarında $O_2^{\bullet}$ miktarlarında artış meydana geldiği rapor edilmiştir. İki farklı mısır genotipinde tuz stresinin vejetatif ve generatif evrelerdeki etkilerini araştırmak için bir çalışma yapılmıştır. Bitkilerin $O_2^{\bullet}$ miktarlarında her iki evrede de artış meydana geldiği ancak generatif evredeki artışın vejetatif evredeki artıştan daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Kholova *et al.* 2010). Yapılan çalışmada artan tuz uygulamaları mısır yapraklarında $O_2^{\bullet}$ radikali miktarında artış meydana getirmiştir (Çizelge 4.17 ve şekil 4.16). Bu sonuç literatür verileri ile uyumludur. Bakteri+tuz uygulamalarında ise özellikle TG-4, TG-8 ve TG-20 izolatları $O_2^{\bullet}$ radikali miktarında önemli miktarda azalmaya neden olmuştur. Tüm bakteri uygulamaları içerisinde artan tuzda (75, 150 ve 250 mM) $O_2^{\bullet}$ radikali miktarı bakımından en iyi sonucu sırasıyla %23, %27 ve %29 oranlarında azalış gösteren TG-20 izolatı göstermiştir. Bu veriler, çalışılan bakterilerin tuz etkisiyle artan $O_2^{\bullet}$ radikali seviyesini düşürerek tuz stresi hasarını azalttığını göstermektedir. Ayrıca $O_2^{\bullet}$ radikali ve H_2O_2 bulguları arasında bir uyum olduğu da görülmektedir.

Herhangi bir stres faktörüyle karşılaşan bitkilerde hızla artan ROT miktarlarını baskılamak ve süpürmek amacıyla bitki tarafından enzimatik (CAT, POX, SOD, APX, GR) veya enzimatik olmayan (Askorbik asit, GSH) antioksidanlar üretilirler. Bitkilerde H_2O_2 'i parçalayarak oksidatif hasara karşı savunma sisteminde önemli rol oynayan enzimlerden birisi katalaz (CAT)'dır. Literatürlerde tuz stresine maruz kalmış bitkilerdeki katalaz değişimiyle alakalı birçok araştırma mevcuttur. Tuz stresine maruz kalmış patateste (Rahnama and Ebrahimzadeh 2005) ve arpada (Seçkin 2010) CAT enzim aktivitesinin arttığı, semizotunda ise azaldığı (Yazıcı *et al.* 2007) rapor edilmiştir.

Molazem and Bashirzadeh (2015a), sekiz farklı mısır çeşidine uygulamış oldukları 2 farklı tuz konsantrasyonlarının (50 ve 10 mM NaCl) kontrole göre 3 türde katalaz miktarlarını artırdığını, diğer 5 türde ise stresin CAT miktarını azalttığını bildirmişlerdir. Gondim *et al.* (2010), tuzlu şartlarda yetiştirdikleri mısır bitkilerinde CATaktivitesinin zamana bağlı olarak artış ve azalışlar meydana getirdiğini rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada tuz uygulamaları kontrole göre CAT aktivitesinde azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.17). Ayrıca aktivitedeki düşüşler tuz konsantrasyonlarının artışına paralel olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında ise düşük tuz uygulamasında (75 mM) kontrole göre tüm bakteri uygulamalarında CAT aktivitesi düşerken, 150 mM tuzda TG-4 izolatu, 250 mM tuzda ise TG-4, TG-8 ve TG-12 izolatu CAT aktivitesini artırmıştır. Bu verilere göre bazı bakteri uygulamaları CAT aktivitesini artırmış olsa da belirgin bir durum görülememiştir. Bir bitkinin strese cevap mekanizması çok farklı yollarla olabilmektedir. Örneğin CAT enziminin substratı (H_2O_2) diğer enzimler tarafından veya enzimatik olmayan antioksidanlar tarafından da kullanılabilir. Bu nedenle CAT aktivitesi üzerinde bakteri uygulamalarının net bir etkisinin görülmemesi sürpriz değildir. Bu veriyi destekleyecek bazı çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Abd El-Ghany *et al.* (2015), tuz stresine maruz kalmış mısır bitki yapraklarında CAT aktivitesinin arttığını, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve *Azotobacter vinelandii* bakteri uygulamalarının ise aktiviteyi düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Diğer bir antioksidan enzim olan peroksidaz (POX) bulguları incelendiğinde, tuz uygulamaları kontrole göre POX aktivitesinde azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.18). Ayrıca aktivitedeki düşüşler tuz konsantrasyonlarının artışına paralel olmuştur. Bakteri+tuz uygulamalarında 75 mM tuz şartlarında kontrole göre TG-8, TG-12 ve TG-20 izolatu POX enzim aktivitesini artırmışken, 150 mM tuzda tüm uygulamalar düşürmüş, 250 mM tuzda ise sadece TG-4 artış sağlamıştır. Tuz stresine maruz kalmış semizotu bitkisinde artan tuz uygulamalarının POX aktivitesini azalttığını bildirilmiştir (Yazıcı *et al.* 2007). Tuz stresine maruz kalmış mısır bitkisi yapraklarında sadece tuz uygulanmış gruplarda POX aktivitesini artmıştır. Mısır bitkisi kök rizosferinden izole edilmiş *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve

Azotobacter vinelandii bakterileri uygulaması normal (0.0 mM) ve düşük (35 mM) tuz uygulamalarında kontrole göre POX aktivitesini artırmışken, yüksek (70 mM) tuz uygulamalarında ise düşüşe neden olmuştur.

Süperoksit radikalini ($O_2^{\bullet-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene çevirebilen SOD, oksidatif strese karşı ilk savunma hattı olarak adlandırılan reaksiyonu katalizler (Guemouri *et al.* 1991; Minibaeva and Gordon 2003; Roach 2009). Stres şartları altında SOD enzim aktivitesinde meydana gelen değişimler birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Yazıcı *et al.* 2007; Yıldıztuğay 2011; Karadağ 2013). Tuz stresi altındaki iki çeşit ayçiçeğinde, tuzluluk kontrole göre bir grupta SOD aktivitesini artırırken diğer grupta ise azalmaya neden olmuştur (Naz and Bano 2013). Benzer şekilde 2 çeşit arpa varyetesi ile yapılan bir çalışmada tuzlu koşullar altında çeşitlerden birisinde kontrole göre SOD aktivitesi artan tuz şiddetiyle beraber artarken diğer grupta ise azalma meydana gelmiştir (Seçkin 2010). Tuna *et al.* (2013), 125 mM NaCl tuz uyguladığı mısır bitkilerinde SOD aktivitesi miktarının kontrole göre düşük olduğunu bildirmiştir. Neto *et al.* (2006), biri tuza hassas diğeri toleranslı iki mısır varyetesine 100 mM tuz uygulamışlardır. Kontrolleriyle karşılaştırıldığında bitki yapraklarında daha fazla miktarda SOD aktivitesi meydana geldiğini bildirmişlerdir. Tuza hassas olan bitki yapraklarında SOD aktivitesi kontrole göre %21 oranında artış gösterirken, tolerant türde bu artış oranı %42 gibi bariz bir farkla ortaya çıkmıştır. Mevcut çalışmada tek başına bakteri uygulamaları kontrolüyle karşılaştırıldığında SOD aktivitesini artırmıştır (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.19). Sonuçlar literatür verileri ile uyum içindedir. Bakteri+tuz uygulamalarında da izolatlar kontrole göre SOD aktivitesini tüm tuz uygulamalarında artırmıştır. SOD aktivitesinin, bakteri uygulamaları ile artması bitkini tuz stresine cevabında önemli bir adımdır. Çünkü SOD, metabolizmada ilk üretilen ROT bileşiği olan $O_2^{\bullet-}$ radikalini süpürür. Benzer bir çalışmada İslam *et al.* (2014a), ağır metal stresine tabi tuttıkları buğday bitkisinde, *Pseudomonas aeruginosa* uygulamasının SOD aktivitesini artırdığını rapor etmiştir. Tuzlu koşullar altında yetiştirilen patlıcan bitkisinde artan tuz uygulaması (0.57, 1, 2 ve 3 g NaCl) SOD aktivitesini düşürmüştür. Bakteri uygulanmış (*Pseudomonas* sp.) bitkilerde ise SOD aktivitesi kontrole göre yüksek olmuştur (Fu *et al.* 2010). Ullah and Bano (2015), *Suaeda fruticosa* (Cirim otu)

halofit bitkisi rizosfer toprağından izole ettikleri PGPR grubu *Bacillus* sp. ve *Arthrobacter pascens* bakterilerini hem ayrı ayrı hem de birlikte mısır bitkisine inoküle etmişlerdir. Kontrolleriyle karşılaştırıldığında inoküle edilmiş gruplarda SOD aktivitesinin daha fazla arttığını bildirmişlerdir.

ROT'ların süpürülmesinde ve hücrelerin korunmasında görev alan bir diğer önemli enzim ise askorbat peroksidazdır (APX) (Gill and Tuteja 2010). İki farklı pirinç çeşidinde artan tuz miktarı köklerde APX aktivitesini artırmıştır (Demiral and Türkan 2005). Ancak tuz stresine maruz kalmış semizotu bitkisinde normalde yüksek olan APX aktivitesinin artan tuz şiddetiyle birlikte azalış gösterdiği rapor edilmiştir (Yazıcı *et al.* 2007). Iqbal (2014), oksin üretme yeteneğine sahip *Pseudomonas fluorescens* ve *Serratia proteamaculans* bakterilerini mısır bitkisine inoküle etmiştir. Artan konsantrasyonlarda (1.63, 4, 8 ve 12 dS/m) tuz uygulaması hem kontrolde hem de bakteri uygulamalarında APX aktivitesinde artışa neden olmuştur. Bakterilerden özellikle *Pseudomonas fluorescens* uygulanan bitkilerdeki APX aktivitesi artışı gerek tek başına *Serratia proteamaculans* uygulamasından gerekse *Pseudomonas fluorescens* ve *Serratia proteamaculans* birlikte uygulanmasından daha fazla APX üretimine neden olmuştur. Bununla birlikte bakteri uygulanmış grupların tamamı tüm tuz konsantrasyonlarında kontrol grubundan daha az miktarda APX aktivitesi artışına neden olmuştur. Bu sonuçlar mevcut çalışmayı desteklemektedir. Bu çalışmadaki (APX) bulguları incelendiğinde, tuz uygulamaları kontrole göre APX aktivitesini önemli seviyede düşürmüştür (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.20). Ayrıca gerek normal şartlarda yetiştirilen bitkilere uygulanan bakterili gruplarda ve gerekse bakteri+tuz uygulamalarında kontrole göre APX aktivitesinde düşüş gerçekleşmiştir. Özetle bakteri izolatları da aktiviteyi düşürmüştür (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.20). Naseem and Bano (2014), mısır bitkisine kurak ve yarı kurak alanlardan izole ettikleri *Proteus penneri*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Alcaligenes faecalis* bakterilerini inoküle etmişlerdir. Kuraklığa maruz kalmış bitki yapraklarında APX aktivitesinin düştüğünü bildirmişlerdir. Yapılan çalışmadan da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak halofit bitki rizosfer toprağından izole edilen PGPR grubu *Bacillus* sp. ve *Arthrobacter pascens*

bakterilerinin inoküle edildiği mısır bitkilerinde APX miktarlarında genel olarak artış gerçekleştiği bildirilmiştir (Ullah and Bano 2015).

Yapılan çalışmalarda glutatyon redüktaz (GR) aktivitesi tek başına tuz uygulamalarında artan tuz konsantrasyonu ile birlikte kontrolüne göre artış göstermiştir (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.21). Su stresine tabi tutulmuş fasulye (Türkan *et al.* 2005) ile tuz stresine maruz kalmış semizotu (Yazıcı *et al.* 2007) ve *Centaurea* sp. bitkileri (Yıldızıtugay 2011) ve selenyum uygulanmış haşhaş bitkilerinde (Karadağ 2013) GR aktivitesi kontrol gruplarına göre artış göstermiştir. Bu veriler mevcut sonuçları desteklemektedir. Bakteri+tuz uygulamalarında 150 mM tuz uygulanmış TG-12 ve TG-20 izolatları hariç diğer tüm bakteri uygulamaları artan tuz konsantrasyonlarında kontrole göre GR enzim aktivitesini artırmışlardır (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.21). Literatürlerde tuz stresi koşullarında PGPR grubu bakteri uygulaması sonrası GR enzim aktivitesindeki değişimlerle alakalı herhangi bir araştırma bulunamamıştır. Bu nedenle bulgular literatür için önemli bir veri olacağı düşünülebilmektedir.

ROT ürünleriyle doğrudan reaksiyona girerek serbest radikalleri etkisizleştirmeyi sağlayan bir diğer antioksidan glutatyondur (GSH). Çalışmada artan tuz konsantrasyonuna paralel olarak kontrole göre tuz uygulamalarında total GSH miktarı artmıştır (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.22). Yapılan bazı çalışmalarda da tuz stresi uygulanmış mısır (Keyster *et al.* 2012), fasulye (Khan *et al.* 2010) ve ıspanak (Ning *et al.* 2015) bitkilerinde GSH içeriğinin arttığı bildirilmiştir. Bu antioksidan seviyesinde artış bitkinin tuz toksitesini bertaraf etmek için oluşturduğu bir cevap olabilir. Normal koşullar altında büyütülen bitkilere bakteri uygulaması da kontrole göre total GSH miktarını artırmıştır. Bakteri+tuz uygulamalarında 150 mM tuz uygulanmış TG-4 grubu ile 250 mM tuz uygulanmış TG-12 grubu dışında tüm bakteri uygulamaları total GSH miktarını kontrole göre artırmıştır (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.22). Ahmad *et al.* (2015), tuz stresine maruz kalmış hardal bitkisine, stresin etkilerini azaltmak için *Trichoderma harzianum* mantarı inoküle etmişlerdir. Tuz uygulamasının kontrole göre GSH miktarında artış sağlamış olduğu bitkilerde, mantar inokülasyonunun GSH miktarını daha fazla artırdığı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçların literatür ile uyum

içerisinde olduğu değerlendirilebilir. Bununla birlikte elde edilen sonuç literatür için yeni bir veridir.

Çalışmada normal şartlarda yetiştirilen bitkilerin bakteri uygulamaları genel olarak total AsA ve yükseltgenmiş AsA (DHA) miktarlarında artışa neden olmuşken, indirgenmiş askorbat (AsA) miktarlarında ise azalmaya neden olmuştur (Çizelge 4.24, 4.25, 4.26 ve Şekil 4.23, 4.24, 4.25). Tek başına tuz uygulamaları total AsA ve DHA miktarlarını artırırken indirgen AsA üzerinde anlamlı bir etki yapmamıştır (Çizelge 4.24, 4.25, 4.26 ve Şekil 4.23, 4.24, 4.25). Bakteri+tuz uygulamalarında total AsA miktarı Özellikle 250 mM NaCl'de bakterilerin tamamı tarafından kontrole göre artırmıştır. DHA miktarı ise bakteri+tuz uygulamalarında kontrole göre tüm konsantrasyonlarda artmıştır (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.24). AsA miktarı bakımından bakteri uygulamaları kontrollerine göre 75 ve 150 mM tuz uygulanmış TG-8 ve TG-12 ile 250 mM tuz uygulanmış TG-12 haricinde genelde düşüşe neden olmuştur. Literatürlerde yapılan çalışmayı destekler nitelikte araştırmalar mevcuttur. Shan *et al.* (2014), 100 mM NaCl stresine maruz bıraktıkları mısır bitkisinde AsA/ DHA oranının tuz uygulanmış gruplarda kontrole göre daha düşük olduğunu rapor etmiştir. Ağır metal stresine maruz kalmış mısır (İslam *et al.* 2014b) bitkisine *Proteus mirabilis* bakteri uygulaması ve buğday (İslam *et al.* 2014a) bitkisine *Pseudomonas aeruginosa* bakteri uygulamaları kontrol grubuna göre stres altında askorbik asit içeriğini artırmışlardır. Benzer şekilde tuzlu koşullar altında mısır bitkisinde (Keyster *et al.* 2012; Tuna *et al.* 2013) askorbat içeriği kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Ahmad *et al.* (2015), tuzlu şartlar altında yetiştirilen hardal bitkisini *Trichoderma harzianum* mantarı ile enfekte ettikten sonra, askorbat içeriğinde mantar verilmemiş kontrol grubuna göre artış gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Shereefa and Kumaraswamy (2016), *Alternaria sesami* (Kawamura) inoküle ettiği yabancı ve kültür susam bitkisinde AsA/DHA oranındaki değişimi 24 gün boyunca takip etmiştir. Ölçüm yapılan günlerde yabancı türde daha fazla AsA ve DHA miktarı tespit edilmiştir. AsA/DHA oranları farklı günlerdeki ölçümlerde değişkenlik göstermekle birlikte her iki türde de yüksek olmuştur.

Prolin özellikle tuzluluk gibi stresli koşullar altında bitki hücrelerinin ozmotik düzenlemesini sağlamada önemli bir rol oynayan ozmoregülatörlerdendir (Roy and Chakraborty 2014). Literatürlerde tuz stresine maruz kalmış mısır bitkilerinde prolin düzeylerinin arttığını gösteren birçok araştırma mevcuttur (Mansour *et al.* 2005; Turan *et al.* 2009; Kaya *et al.* 2010). Molazem and Azimi (2015b), tuz stresine maruz bıraktıkları sekiz farklı mısır bitkisinde prolin miktarlarının normal şartlarda yetiştirilen bitkilere göre önemli derecede arttığını rapor etmişlerdir. İqbal (2014), *Pseudomonas fluorescens* ve *Serratia proteamaculans* bakterilerini mısır bitkisine inoküle ederek artan konsantrasyonda tuz stresi uygulamıştır. Tuzun artmasıyla birlikte prolin miktarlarında da artışlar gerçekleşmiş, fakat bakterilerin ayrı ayrı veya birlikte uygulanması tüm tuz konsantrasyonlarında prolin miktarını kontrole göre artırmamıştır. Yapılan bu araştırmanın sonucu çalışmayla uyum içerisindedir. Çalışmada tek başına tuz uygulaması kontrole göre yapraklarda prolin miktarını önemli seviyede artırmıştır (Çizelge 4.27 ve Şekil 4.26). Bu veriler literatüre uygundur. Bakteri+tuz uygulamalarında TG-20 kontrole göre tüm tuz uygulamalarında prolin miktarında artış sağlamışken diğer bakteri uygulamaları ise azalışlara neden olmuştur. Bazı çalışmalarda *Pseudomonas* sp. ve *Rhizobium* sp. inoküle edilmiş mısır bitkileri tuz stresine tabi tutulmuşlardır. Her iki bakterinin birlikte uygulanması kontrol bitkisine göre prolin miktarında önemli artışa neden olmuştur (Bano and Fatima 2009). Hamdia *et al.* (2004), *Azospirillum brasilense* bakterisi inoküle ettiği iki farklı mısır çeşidini tuzlu koşullar altında yetiştirmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde artan tuz konsantrasyonunun bitkide prolin artışına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar TG-20 izolatından elde edilen bulguları desteklemektedir. Ancak diğer izolatlar aksine prolin içeriğini düşürdüklerinden dolayı literatüre uymamaktadır. Bu PGPR bakterilerinin tuz stresine toleransta farklı mekanizmaları ve yolları kullandıklarını gösterebilir. Bu olayın aydınlatılması için daha spesifik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Tuz stresinden etkilenen ana metabolik yollardan birisi olan fotosentetik sistem, stresin bitkiler üzerindeki etkilerini anlamak için sıklıkla başvurulacak bir yoldur. Mevcut çalışmada artan tuz konsantrasyonunun klorofil miktarını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.28, 4.29, 4.30 ve Şekil 4.27, 4.28, 4.29). Tek başına tuz

uygulanan bitkilerin yapraklarındaki klorofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktarları normal şartlarda yetiştirilen bitkilere göre önemli oranda düşmüştür (Çizelge 4.28. 4.29, 4.30 ve Şekil 4.27, 4.28, 4.29). Sadece 75 mM tuz uygulamasında Klorofil b miktarında önemsiz bir artış olmuştur. Bakteri uygulamaları normal şartlardaki bitkilerde total klorofil ve klorofil-a miktarını genelde kontrole göre artırmıştır. Klorofil-b miktarlarını ise TG-4 izolatı haricinde diğer izolatlar artırmıştır. Bakteri+tuz uygulamalarında TG-4, TG-8 ve TG-12 izolatları kontrole göre total klorofil miktarını 75 ve 150 mM tuzda artırırken, TG-20 izolatı 150 ve 250 mM tuzda artırmıştır. Özellikle TG-12 izolatı tüm tuz konsantrasyonlarında total klorofil miktarını kontrole göre artırmıştır. (Çizelge 4.30 ve Şekil 4.29). Klorofil-a miktarı bakımından TG-8 ve TG-12 izolatı tüm tuz konsantrasyonlarında, TG-4 75 ve 150 mM tuzda, TG-20 ise 150 ve 250 mM tuzda kontrole göre artış gerçekleştirmiştir (Çizelge 4.28 ve Şekil 4.27). Klorofil-b miktarında ise 150 mM tuzda TG-8 ve TG-12, 250 mM tuzda ise TG-12 ve TG-20 izolatları kontrole göre artış göstermiştir (Çizelge 4.29 ve Şekil 4.28). Stres şartları altında klorofil miktarındaki değişimlerle alakalı birçok araştırmacı tarafından çalışmalar yapılmıştır (Yağmur 2008; Turan *et al.* 2009; Kaya *et al.* 2010; Babalık 2012; Karadağ 2013). Tuzlu koşulların mısır bitkisinde klorofil miktarları üzerine olumsuz etki yaparak azalmalara neden olduğuna dair literatürlerde birçok araştırma mevcuttur (Hamdia *et al.* 2004; Nadeem *et al.* 2006; Bano and Fatima 2009; Gondim *et al.* 2013; Tuna *et al.* 2013). NaCl, MgCl₂ ve CaCl₂ tuzlarından oluşmuş tuz solüsyonu ile sulanmış mısır bitkilerinde klorofil içeriğinde önemli azalmalar meydana geldiği bildirilmiştir (El-Sayed 2011). Tuz stresine (100 mM) maruz kalmış mısır bitkisinde klorofil a ve klorofil b miktarlarında kontrole göre önemli oranlarda azalma meydana geldiği rapor edilmiştir (Kaya *et al.* 2010). Ayrıca buğday (Zahir *et al.* 2009; Nia *et al.* 2012; Zarea *et al.* 2012), fasulye (Sadak *et al.* 2013) ve *Arabidopsis thaliana* (Zhang *et al.* 2015) gibi bitkilerin tuz stresine maruz kalmaları sonucu klorofil miktarlarında önemli oranlarda azalmalar meydana geldiği literatürde mevcuttur. Ağır metal stresine maruz kalmış buğday bitkilerine *Pseudomonas aeruginosa* bakteri uygulaması kontrol bitkilerine göre total klorofil, klorofil-a ve klorofil-b miktarlarında artışa neden olmuştur (İslam *et al.* 2014a). Tuzlu şartlarda yetiştirilen mısır bitkisine *Pseudomonas* sp. ve *Rhizobium* sp. birlikte uygulamasının kontrol grubuna göre klorofil içeriğini önemli oranda arttırdığı rapor edilmiştir (Bano and Fatima 2009). Abdelghany *et al.* (2015), tuz stresine maruz

bıraktıkları mısır bitkisine *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* ve *Azotobacter vinelandii* bakterilerini uygulamış, sonuçta kontrolüne göre klorofil içeriğinin arttığını bildirmişlerdir. Özellikle TG-12'nin klorofil üzerine olumlu etki yapan bir PGPR olduğu ileri sürülmüştür.

Nitratin amonyuma indirgenmesinde ilk ve kilit rol oynayan nitrat redüktaz enzimi (NR), çevresel faktörlere ve özellikle de tuz stresine karşı aşırı duyarlıdır (Reda *et al.* 2011). Sıcaklık, su kullanılabilirliği CO₂ seviyesi ve ışık yoğunluğu gibi çevresel faktörler aktivitesini etkileyebilir (Shaner and Boyer 1976). Literatürde tuz stresine maruz kalmış mısır bitkilerinde NR aktivitesinde meydana gelen değişimlerle ilgili birçok araştırma mevcuttur (Khan and Srivastava 1998; Abdelbaki *et al.* 2000; Akram 2013). Farklı konsantrasyonlarda (0, 50, 100 ve 200 mM NaCl) tuz koşullarında yetiştirilen mısır bitkileriyle ilgili yapılan bir çalışmada artan tuz seviyesi yapraklarda NR aktivitesini düşürürken köklerde ise artışa neden olmuştur. İyileştirici olarak kullanılan salisilik asit uygulaması kontrole göre yaprak ve köklerdeki NR aktivitesini artırmıştır (Gautam and Singh 2009). Akram (2014), tuz stresine maruz bıraktığı iki farklı mısır varyetesinde tek başına tuz uygulamasının yapraklarda NR aktivitesini düşürdüğünü, iyileştirici faktör uygulamasıyla birlikte NR aktivitesinde kontrole göre artış meydana geldiğini bildirmiştir. Singh *et al.* (2010), *Paenibacillus polymyxa* uygulanmış mısır bitkilerinde kontrole göre NR aktivitesinde artış olduğunu bildirmiştir. Bir diğer çalışmada tuz stresi altındaki iki çeşit mısır bitkilerine PGPR grubu *Azospirillum brasilense* bakterisi inoküle edilmiştir. Normal şartlarda yetiştirilen bitkilerde kök ve yapraklarda NR aktivitesi yüksekken tuz uygulamasıyla birlikte düşüş olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca her iki mısır çeşidinde de PGPR bakteri uygulaması kontrole göre NR aktivitesinde artışlar göstermiştir (Hamdia *et al.* 2004). Tek başına tuz uygulaması kök ve gövdede NR aktivitesinde genel olarak önemsiz artışlara neden olmuştur (Çizelge 4.31, 4.32 ve Şekil 4.30, 4.31). Normal şartlarda yetiştirilen bitkilerin bakteri uygulamaları kontrole göre yaprakta artış sağlarken kökte ise TG-4 ve TG-20 artış, TG-8 ve TG 12 ise azalış sağlamıştır. Bakteri+tuz uygulamalarında yaprakta 150 mM tuzda TG-8, 250 mM tuzda ise TG-4 ve TG-8 kontrole göre NR aktivitesini düşürmüşken, diğer tüm tuz konsantrasyonlarında bakteri uygulamaları aktiviteyi

artırmıştır. Kökte ise bakteri+tuz uygulamalarında 150 mM tuz uygulanmış TG-4 dışında tüm bakteri uygulamaları kontrole göre NR aktivitesini düşürmüştür. Elde edilen veriler literatürle tam olarak örtüşmemektedir. Bunun sebebi uygulanan tuz dozlarının veya mısır bitki çeşidinin farklı bir tepkisi olabilir. Bu konuda ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Çünkü NR aktivitesini etkileyen pek çok faktör bulunmaktadır.

Stres koşullarında bitkilerde seviyesi artan bir diğer organik madde ise etilen hormonudur. Etilen stres şartlarında öncül maddesi olan aminosiklopropan karboksilatdan (ACC) sentezlenir. ACC, ACC oksidaz enzimi vasıtasıyla etileni meydana getirir (Hontzeas *et al.* 2005). Bazı PGPR'lerin ACC deaminaz sentezleyerek etilen oluşumunu engellediği ve bu sayede stres şartlarında bile bitki büyümesini teşvik ettiği literatürlerde mevcuttur (Siddikee *et al.* 2010; Glick 2012; Walpola *et al.* 2014; Belimov *et al.* 2015; Hassan *et al.* 2015). Tuz stresine maruz kalmış salatalık (Gamalero *et al.* 2009), buğday (Zahir *et al.* 2009; Rajput *et al.* 2013), patlıcan (Abdelazeem *et al.* 2012), fasulye (Ahmad *et al.* 2012) ve domates (Tank and Saraf 2010; Sadrnia *et al.* 2011) bitkilerinde ACC deaminaz aktivitesine sahip bakteri uygulamalarının etilen üretimini indirgeyerek stres şartları altında bitki büyümesini teşvik ettiği bildirilmiştir. Ahmad *et al.* (2014), tuzlu şartlarda yetiştirilen mısır bitkisine ACC deaminaz aktivitesine sahip *Pseudomonas fluorescens* ve *Enterobacter aerogenes* bakterileri uygulamışlar ve bitki büyümesinde inokülasyon yapılmamış kontrole göre artış olduğunu rapor etmişlerdir. Bununla birlikte ACC deaminaz üretebilen her bakterinin bitki gelişimini artırmada etkili olamayacağı da bildirilmiştir (Dey *et al.* 2004). Mevcut çalışmada kullanılan izolatlardan TG-4 ACC deaminaz üretmezken, TG-8, TG-12 ve TG-20 ise ACC deaminaz bakımından pozitif olduğu bulunmuştur.

Azot fiksasyonu bakımından çalışılan izolatlardan TG-8 negatif özellik gösterirken TG-4, TG-12 ve TG-20 ise pozitif özellik göstermiştir. Bu durum nitrat redüktaz aktivitesi sonuçlarıyla da örtüşmektedir. Nitekim azot fiksasyonu pozitif olan özelliklerde TG-12 ve TG-20 izolatlarının uygulandığı bitkilerin yapraklarında nitrat redüktaz enzim

aktivitesi azot fikse edemeyen TG-8 izolatinin uygulandığı bitki yapraklarından daha fazla olmuştur (Çizelge 4.3).

Stres şartlarında bitki yapraklarından elde edilen ekstraktın proteinleri SDS-PAGE’de yürütüldüğünde meydana gelen bantlarda değişim olduğunu gösteren çalışmalar literatürlerde mevcuttur (Mutlu 2009b; Karali *et al.* 2012; Muneer *et al.* 2014). Tuzlu koşullar altında yetiştirilen mısır bitkisinde de farklı bant oluşumlarını gösteren araştırmalar bulunmaktadır (Mueller *et al.* 2003; Bastias *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2015). Farklı konsantrasyonlarda (0.0., 50, 100 ve 150 mM NaCl) tuz stresine maruz kalmış mısır (*Zea mays* L.) bitkisi yaprağına ait proteinler SDS-PAGE’de yürütüldüğü zaman, tuzlu koşullarda daha fazla bant oluştuğu görülmüştür (Beltagi 2008). Yapılan çalışmada normal şartlara göre, artan tuzlu koşullarda bantların şiddetinde genel olarak artış meydana gelmiştir (Şekil 4.32, 4.33, 4.34 ve 4.35). Özellikle 150 mM tuz uygulamasıyla birlikte TG-8, TG-12 ve TG-20 izolatları uygulanmış gruplarda 45 kDa’luk yeni bant oluşumu gerçekleşmiştir. Diğer tuz uygulamalarında ise kontrolleriyle karşılaştırıldığında bakteri uygulamaları sonucunda bant şiddetinde artmalar ve azalmalar meydana gelmiştir (Şekil 4.34).

Araştırmadan elde edilen sonuç ve öneriler;

1. Türkiye’de ilk kez Tuz Gölü havzasında yaşayan bazı halofit bitki köklerinden halotolerant rizobakteriler izole edilmiştir. Bu bakterilerin ACC deaminaz aktivitesi ve azot fiksasyon yetenekleri belirlenmiştir.
2. İzole edilen bakteri izolatları mısır tohumlarına inoküle edilmiş ve tuzlu koşullarda mısırdaki birçok büyüme ve fizyolojik parametreler üzerinde olumlu etki yaptığı belirlenmiştir. Bu nedenle izole edilen bakteri izolatlarının PGPR potansiyeline sahip bakteriler olduğu değerlendirilmiştir.
3. Bakteri uygulamaları genel olarak bitki kök ve gövde kuru ağırlığı ile bitki uzunluğu üzerinde olumlu etki yapmıştır.
4. Bakteri uygulamaları tuz stresisiyle birlikte kök ve gövdede Na/K ve Ca seviyelerinde olumlu etkiler göstermişlerdir. Bakteri uygulamaları tuz uygulanmış

mısırdaki membran hasarını azaltarak yapraklarda canlılık oranında artışlara neden olmuştur.

5. Bakteri uygulamaları tuzun membranlar üzerindeki olumsuz etkisini azaltarak LPO seviyesinde azalmaya, bunun sonucunda da bitkinin strese karşı toleransının artmasına neden olmuştur.

6. H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ gibi ROT türlerinin miktarlarının bakteri uygulamalarıyla düşürülmesi, izolatların oksidatif hasara karşı bitkiyi koruduğunu göstermektedir.

7. Tuz uygulamaları genel olarak antioksidan enzimlerden CAT, POX, SOD ve APX aktivitelerini düşürürken GR aktivitesini artırmıştır. Bakteri uygulamaları sonucunda ise bu enzimlerde artış ve azalışlar gözlenmiştir.

8. Tuz uygulamalarıyla enzimatik olmayan antioksidanların (Askorbik asit ve GSH) aktiviteleri artmıştır. Bakteri uygulamaları bu artışı daha fazla oranda gerçekleştirmiştir.

9. Tuz şiddeti arttıkça artan prolin miktarı bakteri uygulamalarıyla daha da artırmıştır.

10. Tuzlu şartlar altında yetiştirilen bitkilerin klorofil-a, klorofil-b ve total klorofil miktarlarında düşüş meydana gelmiştir. Bakteri uygulamaları her üç parametreyi de genelde artırmıştır.

11. Tuzlu koşullar altında yetiştirilen bitkilerin kök ve gövdelerinde NR aktivitesi artışa neden olmuştur. Bakteri uygulamaları ise tuz konsantrasyonu ve izolat çeşidine göre artış ve azalışlar göstermiştir.

12. Çalışmamızda kullanılan izolatların genel olarak PGPR grubu bakteriler içerisine dâhil edilebileceği ileri sürülmüştür.

13. Çalışmamız literatür için yeni bilgiler kapsadığından, ülkemizde bu alandaki çalışmalara önemli katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abazarian, R., Yazdani, M.R., Khosroyar, K. and Arvin, P., 2011. Effects of different levels of salinity on germination of four components of lentil cultivars. *African Journal of Agricultural Research*, 6(5), 2761-2766.
- Abbasi, G.H., Akhtar, J., Haq, M.A.U., Ali, S., Chen, Z. H. and Malik, W., 2014. Exogenous potassium differentially mitigates salt stress in tolerant and sensitive maize hybrids. *Pak. J. Bot.*, 46(1), 135-146.
- Abd El-Azeem, S.A.M., Elwan, M.W.M., Sung, J. K. and Ok, Y.S., 2012. Alleviation of salt stress in eggplant (*Solanum melongena* L.) by plant-growth-promoting rhizobacteria. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 43, 1303-1315.
- Abdelbaki, G.K., Siefert, F., Man, H.M., Weiner, H., Kaldenhoff, R. and Kaiser, W.M., 2000. Nitrat redüktase in *Zea mays* L. in salinity. *Plant, Cell and Environment*, 23, 515-521.
- Abd El-Ghany, T.M., Masrahi, Y.S., Mohamed, A., Abboud, A., Alawlaqi, M.M., and Elhussieny, N.I., 2015. Maize (*Zea mays* L.) growth and metabolic dynamics with plant growth-promoting rhizobacteria under salt stresses. *J Plant Pathol Microb.*, 6 (9), 1-9.
- Abogadallah, G.M., 2010. Antioxidative defense under salt stres. *Plant Signaling & Behavior*, 5 (4), 369-374.
- Adesemoye, A.O., Torbert, H.A. and Kloepper, J.W., 2008. Enhanced plant nutrient use efficiency with PGPR and AMF in an integrated nutrient management system. *Can. J. Microbiol.*, 54, 876-886.
- Adesemoye, A.O., Torbert, H.A. and Kloepper, J.W., 2009. plant growth-promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb Ecol*, 58, 921-929.
- Adıgüzel, N., Byfield, A., Duman, H. ve Vural, M., 2005. Tuz Gölü ve Stepleri. Türkiye'nin 122 önemli bitki alanı. Özhatay, N., Byfield, A. ve Atay, S.. WWF Türkiye (Doğal Hayatı Koruma Vakfı), İstanbul, 289-292.
- Afrasayab, S. and Hasnain, S., 2001. Salt tolerant bacteria differently affecting the growth of *Triticum aestivum* varieties under NaCl stressses. *Pak.J.Bot.*, 33, 605-617.
- Afrasayab, S., Faisal, M. and Hasnain. S., 2010. Comparative study of wild and transformed salt tolerant bacterial strains on *Triticum aestivum* growth under salt stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 946-955.
- Agami, R.A., 2014. Applications of ascorbic acid or proline increase resistance to salt stres in barley seedlings. *Biologia Plantarum*, 58 (2), 341-347.
- Agarwal, S. and Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48 (4), 555-560.
- Ağar, A.İ. ve Ağar, A.M., 2011. Halofitik (tuzcul) bitkiler yetiştirilerek degrade olmuş toprakların üretime kazandırılabilme olanakları. II Ulusal Toprak ve Su Kaynakları Kongresi, Ankara.
- Ahmad, M., Zahir, Z.A., Asghar, H.N. and Arshad, M., 2012. The combined application of rhizobial strains and plant growth promoting rhizobacteria improves growth

- and productivity of mung bean (*Vigna radiata* L.) under salt-stressed conditions. *Ann Microbiol*, 62, 1321-1330.
- Ahmad, M., Zahir, Z.A., Jamil, M., Nazlı, F., Latif, M. and Akhtar, M.F.U., 2014. integrated use of plant growth promoting rhizobacteria, biogas slurry and chemical nitrogen for sustainable production of maize under salt-affected conditions. *Pak. J. Bot.*, 46 (1), 375-382.
- Ahmad, P., Hashem, A., Abd-Allah, E.F. Alqarawi, A.A., John, R., Egamberdieva, D. and Gucl, S., 2015. Role of *Trichoderma harzianum* in mitigating NaCl stress in Indian mustard (*Brassica juncea* L.) through antioxidative defense system. *Frontiers in Plant Science*, 6 (868), 1-15.
- Akbarimoghaddam, H., Galavi, M., Ghanbari, A. and Panjehkeh, N., 2011. Salinity effects on seed germination and seedling growth of bread wheat cultivars. *Trakia J. Sci.*, 9(1), 43-50.
- Akhgar, A.R., Arzanlou, M., Bakker, P.A.H.M. and Hamidpour, M., 2014. Characterization of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Deaminase-containing *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere of salt-stressed canola. *Pedosphere*, 24 (4), 461-468.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları*, 157, Konya.
- Akram, M., 2013. Effect of potassium nutrition on solute accumulation, ion composition and yield of maize hybrids grown under saline conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 36, 143-163.
- Akram, M., 2014. Effect of nitrogen nutrition on solute accumulation and ion contents of maize under sodium chloride stress. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 45, 86-100.
- Alam, M.S., Cui, Z., Yamagishi, T. and Ishii, R., 2001. Grain yield and related physiological characteristics of rice plants (*Oryza sativa* L.) inoculated with free-living rhizobacteria. *Plant Prod. Sci.*, 4(2), 126-130.
- Ali, A.A. and Fattah, R.I.A., 2006. Osmolytes-antioxidant behaviour in *Phaseolus vulgaris* and *Hordeum vulgare* with Brassinosteroid under salt stress. *Journal of Agronomy*, 5(1), 167-174.
- Ali, A.A. and Alqurainy, F., 2006. Activities of antioxidants in plants under environmental stress. In the Lutein-Prevention and Treatment for Age-related Diseases, Noboru Motohashi. Transworld Research Network, India, 187-256.
- Ali, A., Sivakami, S. and Raghuram, N., 2007. Effect of Nitrate, Nitrite, Ammonium Glutamate, Glutamine and 2-oxoglutarate on the RNA levels and enzyme activities of nitrate reductase and nitrite reductase in Rice. *Physiol. Mol. Biol. Plants*, 13 (1), 17-25.
- Ali, M.A.M., Ramezani, A., Far, S.M., Asilan, K.S., Ghahderijani, M.M. and Jamian, S.S., 2013. Application of silicon ameliorates salinity stress in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.*, 6 (20), 1367-1372.
- Almaghrabi, O.A., Massoud, S.I., Abdelmoneim, T.S., 2013. Influence of inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on tomato plant growth and nematode reproduction under greenhouse conditions. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20, 57-61.
- Anbumalarmathi, J., Mehta, P., Nethralaya, S. and Nadu, T., 2013. Effect of salt stress on germination of indica rice varieties. *EJBS*, 6(1), 1-6.

- Anith, K.N., Momol, M.T., Kloepper, J.W., Marois, J.J., Olson, S.M. and Jones, J.B., 2004. Efficacy of plant growth promoting rhizobacteria, acibenzolar-S-methyl and soil amendment for integrated management of bacterial wilt on tomato. *Plant Disease*, 88 (6), 669-673.
- Anitha, G. and Kumudini, B.S., 2014. Isolation and characterization of fluorescent pseudomonads and their effect on plant growth promotion. *Journal of Environmental Biology*, 35, 627-334.
- Anonim, 2012. Oksidatif stres ve antioksidanlar. Oksante Ar-Ge Laboratuvarı. İstanbul.
- Ansary, M.H., Rahmani, H.A., Ardakani, M.R., Paknejad, F., Habibi, D. and Mafakheri, S., 2012. effect of pseudomonas fluorescent on proline and phytohormonal status of maize (*Zea mays* L.) under water deficit stress. *Annals of Biological Research*, 3 (2), 1054-1062.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stres and signal transduction. *Annu.Rev.Plant Biol.*, 12(55), 373-389.
- Arslan, H., Kırmızı, S., Sakar, F.S. ve Güler, G., 2009. Akdeniz bitki coğrafyası bölgesinde yayılış gösteren bazı çalı türlerinde nitrat redüktaz aktivitesi (NRA). *Ekoloji* 18, 71, 49-56.
- Asada, K., 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141, 391-396.
- Asami, S. and Akazawa, T., 1978. photooxidative damage in photosynthetic activities of *Chromatium vinosum*. *Plant Physiol.* 62, 981-986.
- Ashraf, M. and Harris, P. J. C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3-16.
- Atış, İ., 2011. Bazı silajlık sorgum (*Sorghum bicolor* L. Moench) çeşitlerinin çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine tuz stresinin etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 6 (2):58-67.
- Ayala, A., Muñoz, M.F. and Argüelles, S., 2014. lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 1-31.
- Ayers, R.S. and Westcot, D.W., 1976. Water quality for agriculture. Food and Agriculture Organization of the U.N., 107, Rome.
- Azooz, M.M., 2009. Salt stress mitigation by seed priming with salicylic acid in two faba bean genotypes differing in salt tolerance. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11 (4), 343-350.
- Azzedine, F., Gherroucha, H. and Baka, M., 2011. Improvement of salt tolerance in durum wheat by ascorbic acid application. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 7 (1), 27-37.
- Babalık, Z., 2012. Tuz ve su stresinin asmaların bazı fiziksel ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkileri. Doktora tezi, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Badawi, G.H., Yamauchi, Y., Shimada, Y., Sasaki, R., Kawano, N., Tanaka, K., Tanaka, K., 2004. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing superoxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Science* 166, 919-928.
- Bal, H.B., Nayak, L., Das, S. and Adhya, T.K., 2013. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stres. *Plant Soil*, 366, 93-105.

- Baldani, V.L.D., Baldani, J.I. and Döbereiner, J., 1987. Inoculation of field-grown wheat (*Triticum aestivum*) with *Azospirillum* spp. in Brazil. *Biol Fertil Soils*, 4, 37-40.
- Banci, L., 1997. Structural properties of peroxidase. *J. Biotech.*, (53), 253-263.
- Bandyopadhyay, U., Das, D. and Banerjee, R.K., 1999. Reactive oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Current Science*, 77 (5), 658-666.
- Bano, A. and Fatima, M., 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol Fertil Soils*, 45, 405-413.
- Baran, A., 2011. Bitkilerin tuz stresine toleransında salisilik asit ve prolinin fizyolojik rolünün araştırılması. Yüksek lisans tezi, Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Bastias, E., Gonzales-Moro, M.B. and Murua, C.G., 2013. Interactive effects of excess boron and salinity on histological and ultrastructural leaves of *Zea mays* amylacea from the Lluta Valley (Arica-Chile). *Cien. Inv. Agr.* 40 (3), 581-595.
- Banu, N.A., Hoque, A., Sugimoto, M.W., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y., 2009. Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology*, 166, 146-156.
- Barro, F., Fontes, A.G. and Maldonado, J.M., 1991. Organic nitrogen content and nitrate and nitrite reductase activities in tritordeum and wheat grown under nitrate or ammonium. *Plant and Soil*, 135, 251-256.
- Bartoli, C.G., Simontacchi, M., Tambussi, E., Beltrano, J., Montalde, E. and Puntarulo, S., 1999. Drought and watering dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves. *J Exp Bot*, 50, 375-83.
- Bates, L., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Beauchamp, C.J. and Kloepper, J.W., 2003. Spatial and temporal distribution of a bioluminescent-marked *Pseudomonas putida* on soybean root. *Luminescence*, 18, 346-351.
- Belimov, A.A., Dodd, I. C., Safronova, V.I., Shaposhnikov, A.I., Azarova, T.S., Makarova, N.M., Davies, W.J. and Tikhonovich, I.A., 2015. Rhizobacteria that produce auxins and contain 1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid deaminase decrease amino acid concentrations in the rhizosphere and improve growth and yield of well-watered and water-limited potato (*Solanum tuberosum*). *Ann Appl Biol.*, 2015, 1-16.
- Beltagi, M.S., 2008. Molecular responses of Bt transgenic corn (*Zea mays* L.) plants to salt (NaCl) stress. *Australian Journal of Crop Science*, 2 (2), 57-63.
- Bertrand, H., Nalin, R., Bally, R., Marel, J.C.C., 2001. Isolation and identification of the most efficient plant growth-promoting bacteria associated with canola (*Brassica napus*). *Biol Fertil Soils*, 33, 152-156.
- Bhardwaj, S., Sharma, N.K., Srivastava, P.K. and Shukla, G., 2010. Salt tolerance assessment in alfalfa (*Medicago sativa* L.) ecotypes. *Bot. Res. J.*, 3 (1-4), 1-6.
- Bhattacharya, S., 2015. Reactive oxygen species and cellular defense system. *Free Radicals in Human Health and Disease*, 17-29.

- Biari, A., Gholami, A. and Rahmani, H.A., 2008. Growth promotion and enhanced nutrient uptake of maize (*Zea mays* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria in arid region of Iran. *Journal of Biological Sciences*, 8 (6), 1015-1020.
- Bogdanovic, S., Brullo, S., Alegro, A.L., Resetnik, I., Mitic, B., 2012. Taxonomic notes on *Puccinellia teyberi* (Poaceae), a critical species of Croatian flora. *Biologia*, 67 (1), 71-78.
- Bor, M., Özdemir, F. and Türkan, İ., 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L.. *Plant Science*, 164, 77-84.
- Breusegem, F.V., Vranova, E., Dat, J.F. and Inze, D., 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Sci.*, 161, 405–414.
- Bunkelmann, J. R. and Trelease, R. N., 1996. Ascorbate peroxidase :A prominent membrane protein in oilseed glyoxysomes. *Plant Physiol.*, 110, 589-598.
- Burrelle, N.K., Vavrina, C.S., Roskopf, E.N. and Shelby, R.A., 2002. Field evaluation of plant growth-promoting Rhizobacteria amended transplant mixes and soil solarization for tomato and pepper production in Florida. *Plant and Soil*, 238, 257-266.
- Büyük, İ., Aydın, S.S. ve Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2), 97 – 110.
- Candas, D. and Li, J.J., 2014. MnSOD in oxidative stress response-potential regulation via mitochondrial protein influx. *Antioxidants & Redox Signaling*, 20 (10), 1599-1617.
- Caverzan, A., Passaia, G., Rosa, S.B., Ribeiro, C.W., Lazzarotto, F. and Margis-Pinheiro, M., 2012. Plant responses to stresses: Role of ascorbate peroxidase in the antioxidant protection. *Genetics and Molecular Biology*, 35 (4), 1011-1019.
- Chan, K.Y. and Wasserman, B.P., 1993. Rapid Solid-Phase Determination of Cereal Protein Using Bicinchoninic Acid. *Cereal. Chem.* 70 (1), 27-28.
- Chang, P.C., 2007. The use of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and an arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) to improve plant growth in saline soils for phytoremediation. Master of Science, University of Waterloo, Canada.
- Chaudiere, J. and Iliou, R.F., 1999. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37, 949-962.
- Chaum, S. and Kırdmanee, C., 2009. Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pak. J. Bot.*, 41(1), 87-98.
- Chen, X.Y., He, Y.F., Luo, Y.M., Yu, Y.L., Lin, Q. and Wong, M.H., 2003. Physiological mechanism of plant roots exposed to cadmium. *Chemosphere*, 50, 789-793.
- Chen, Y.G., Cui, X.L., Li, W.J., Xu, L.H., Wen, M.L., Peng, Q. and Jiang, C. L., 2008. *Salinicoccus salitudinis* sp. nov., a new moderately halophilic bacterium isolated from a saline soil sample. *Extremophiles*, 12, 197–203.
- Chen, L., Xua, M., Zheng, Y., Mena, Y., Sheng, J. and Shen, L., 2014. Growth promotion and induction of antioxidant system of tomatoseedlings (*Solanum lycopersicum* L.) by endophyte TPs-04 under lownight temperature. *Scientia Horticulturae*, 176, 143-150

- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J.K., 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. *Crop Science Society*, 45, 437-448.
- Conklin, P.L. and Barth, C., 2004. Ascorbic acid: a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens and the onset of senescence. *Plant Cell Environ.*, 27, 959-970.
- Contesto, C., Desbrosses, G., Lefoulon, C., Bena, G., Borel, F., Galland, M., Gamet, L., Varoquaux, F. and Touraine, B., 2008. Effects of rhizobacterial ACC deaminase activity on rabidopsis indicate that ethylene mediates local root responses to plant growth-promoting rhizobacteria. *Plant Science*, 175, 178-189.
- Czepas, J.K., Bijaka, B., Saluka, J., Ponczeka, M.B., Zbikowskaa, H.M., Nowaka, P., Manieckab, M.T., Pawlaczyk, Ī., 2015. Radical scavenging and antioxidant effects of *Matricaria chamomilla* polyphenolic-polysaccharide conjugates. *International Journal of Biological Macromolecules* 72 (2015) 1152–1158.
- Çakmakçı, R., Kantar, F., and Algur, Ö.F., 1999. Sugar beet and barley yields in relation to *Bacillus polymyxa* and *Bacillus megaterium* var. *Phosphaticum* inoculation. *J.Plant Nutr. Soil Sci.*, 162, 437-442.
- Çakmakçı, R., Kantar, F. and Şahin, F., 2001. Effect of N₂-fixing bacterial inoculations on yield of sugar beet and barley. *J.Plant Nutr. Soil Sci.*, 164,527-531.
- Çakmakçı, R., 2009. Stres koşullarında ACC deaminaze üretici bakteriler tarafından bitki gelişiminin teşvik edilmesi. *Atatürk Üniv.Zir.Fak.Derg.*, 40(1), 109-125.
- Çarpıcı, E.B., Çelik, N. And Bayram, G., 2009. Effects of salt stress on germination of some maize (*Zea mays* L.) cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 8 (19), 4918-4922.
- Çelikezen, F.Ç ve Ertekin,A., 2009. Bleomycin uygulanan ratlarda CoQ10'in lipit peroksidasyonu, antioksidan profil ve bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *Y.Y.U. Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 41 – 48.
- Çolak, G., Keser, Ö. ve Caner, N., 2008. *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Raphanus sativus* L. bitkilerinde çimlenme ve sonrası büyüme aşamalarında Na₂SO₄ Tipi tuz stresinin etkileri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24 (1-2), 17 – 38.
- Dadkhah, A.R., 2010. Effect of salt stress on growth and essential oil of *Matricaria chamomilla*. *Research Journal of Biological Sciences*, 5 (10), 643-646.
- Dat, J.F., Pellinen, R., Beeckman, T., Cotte, B.V.D., Langebartels, C., Kangasjarvi, J., Inze, D. and Breusegem, F.V., 2003. Changes in hydrogen peroxide homeostasis trigger an active cell death process in tobacco. *The Plant Journal*, 33, 621–632.
- Davidson, J.F., Whytet, B., Bissingertt, P.H. and Schiestl, R.H., 1996. Oxidative stress is involved in heat-induced cell death in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*, 93, 5116-5121.
- Deinlein, U., Stephan, A.B., Horie, T., Luo, W., Xu, G. and Schroeder, J.I., 2014. Plant salt-tolerance mechanisms. *Trends in Plant Science*, 19 (6), 371-379.
- Demiral, T. and Türkan, Ī., 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247–257.
- Desale, P., Patel, B., Singh, S., Malhotra, A. and Nawani, N., 2014. Plant growth promoting properties of *Halobacillus* sp. and *Halomonas* sp. in presence of salinity and heavy metals. *J. Basic Microbiol.*, 54, 781-791.

- Dey, R., Pal, K.K., Bhatt, D.M. and Chauhan, S.M., 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth-promoting rhizobacteria. *Microbiological Research*, 159, 371-394.
- Domenech, J., Reddy, M.S., Kloepper, J.W., Ramos, B. and Manero, J. G., 2006. Combined application of the biological product LS213 with *Bacillus*, *Pseudomonas* or *Chryseobacterium* for growth promotion and biological control of soil-borne diseases in pepper and tomato. *BioControl*, 51, 245-258.
- Dong, Y.J., Jinc, S.S., Liu, S., Xu, L.L. and Kong, J., 2014. Effects of exogenous nitric oxide on growth of cotton seedlings under NaCl stress. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(1), 1-13.
- Ejaz, B., Sajid, Z.A. and Aftab, F., 2012. Effect of exogenous application of ascorbic acid on antioxidant enzyme activities, proline contents, and growth parameters of *Saccharum* spp. hybrid cv. HSF-240 under salt stress. *Turk J Biol.*, 36, 630-640.
- Eker, S., Cömertpay, G., Konuşkan, Ö., Ülger, A.C., Öztürk, L. and Çakmak, İ., 2006. Effect of salinity stress on dry matter production and ion accumulation in hybrid maize varieties. *Turk. J. Agric. For.*, 30, 365-373.
- Ekinci, M., Turan, M., Yildirim, E., Güneş, A., Kotan, R. and Dursun, A., 2014. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrient, organic acid, amino acid and hormone content of cauliflower (*Brassica oleracea* L. Var. Botrytis) transplants. *Acta sci. Pol., Hortorum cultus*, 13 (6), 71-85.
- Ekmekçi, E., Apan, M. ve Kara, T., 2005. Tuzluluğun bitki gelişimine etkisi. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 20 (3), 118-125.
- Ellman, G.L., 1959. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70-77.
- El-Sayed, H.S.A., 2011. Influence of salinity stress on growth parameters, photosynthetic activity and cytological studies of *Zea mays* L. plant using hydrogel polymer. *Agric. Biol. J. N. Am.*, 2 (6), 907-920.
- Emmanuel, E. S. C., Anandkumar, B., Natesan, M. and Maruthamuthu, S., 2010. Efficacy of rare earth elements on the physiological and biochemical characteristics of *Zea mays* L.. *Australian Journal of Crop Science*, 4(4), 289-294.
- Erdal, S., Genç, E., Karaman, A., Khosroushahi, F. K., Kızılkaya, M., Demir, Y. and Yanmış, D., 2014. Differential responses of two wheat varieties to increasing boron toxicity. changes on antioxidant activity, oxidative damage and DNA profile. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 15 (3), 1217-1229.
- Fadzilla, N.M., Finch, R. P. and Burdon, R. H., 1997. Salinity, oxidative stress and antioxidant responses in shoot cultures of rice. *Journal of Experimental Botany*, 48 (307), 325-331.
- Fages, J. and Arsac, J.F., 1991. Sunflower inoculation with *Azospirillum* and other plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Soil*, 137, 87-90.
- FAO, 1988, <http://www.fao.org/docrep/x5871e/x5871e00.htm>
- Faustino, F.C., Garcia, R.N., Agtarap, M.L., Mendoza, E.M.T. and Lips, S.H., 2000. Salt tolerance in corn: growth responses, ion accumulation, nitrate reductase and PEP- Carboxylase activities. *Philipp. J. Crop. Sci.*, 25 (1), 17-26.
- Feng, G., Zhang, F.Z., Li, X.L., Tian, C.Y., Tang, C. and Rengel, Z., 2002. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots. *Mycorrhiza*, 12, 185-190.

- Flowers, T.J. and Colmer, T.D., 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179, 945–963.
- Fonseca, A., Inostroza-Blancheteau, C., Cartes, P., Rengel, Z. and Mora, M.L., 2013. Early induction of Fe-SOD gene expression is involved in tolerance to Mn toxicity in perennial ryegrass. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73, 77-82.
- Foyer, C.H. and Noctor, G., 2000. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signalling. *New Phytol.*, 146, 359-388.
- Frommel, M.I., Nowaki, J. and Lazarovits, G., 1993. Treatment of potato tubers with a growth promoting *Pseudomonas* sp.: Plant growth responses and bacterium distribution in the rhizosphere. *Plant and soil*, 150, 51-60.
- Frugoli, J. A., McPeck, M. A., Thomas, T. L. and McClung, C. R., 1998. Intron loss and gain during evolution of the catalase gene family in angiosperms. *Genetics*, 149, 355–365.
- Fu, Q., Liu, C., Ding, N., Lin, Y. and Guo, B., 2010. Ameliorative effects of inoculation with the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas* sp. DW1 on growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) seedlings under salt stres. *Agricultural Water Management*, 97, 1994–2000.
- Furtana, G. B., 2010. Tuz Gölü çevresindeki bazı endemik halofit bitkilerin ekofizyolojisi. Doktora tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Furtana, G. B., Duman, H. and Tıpırdamaz, R., 2013. Seasonal changes of inorganic and organic osmolyte content in three endemic *Limonium* species of Lake Tuz (Turkey). *Turk J. Bot.*, 37, 455-463.
- Gadjev, I., Stone, J. M. and Gechev, T. S., 2008. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 270 (3), 87-144.
- Gamalero, E., Berta, G., Massa, N., Glick, B. R. and Lingua, G., 2009. Interactions between *Pseudomonas putida* UW4 and *Gigaspora rosea* BEG9 and their consequences for the growth of cucumber under salt-stress conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 236–245.
- Gautam, S. and Singh, P. K., 2009. Salicylic acid-induced salinity tolerance in corn grown under NaCl stres. *Acta Physiol Plant*, 31, 1185-1190.
- Gebauer, G., Rehder, H. and Wollenweber, B., 1988. Nitrate, nitrate reduction and organic nitrogen in plants from different ecological and taxonomic groups of Central Europe. *Oecologia*, 75, 371-385.
- Gecheva, T., Gadjeva, I., Breusegemb, F. V., Inzé, D., Dukiandjieva, S., Tonevaa, V. and Minkov, I., 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stres by inducing a set of antioxidant enzymes. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 59, 708–714.
- Gechev, T. S., Breusegem, F. V., Stone, J. M., Denev, I. and Laloi, C., 2006. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death. *BioEssays*, 28, 1091-1101.
- Gharari, Z., Nejad, R. K., Band, R. S., Najafi, F., Nabiuni, M. and Irian, S., 2014. The role of *Mn*-SOD and *Fe*-SOD genes in the response to low temperature in *chs* mutants of *Arabidopsis*. *Turk J Bot*, 38, 80-88.
- Gill, S. S. and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stres tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.

- Glick, B. R., 2005. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters* 251, 1–7.
- Glick, B. R., Cheng, Z., Czarny, J. and Duan, J., 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur J Plant Pathol*, 119, 329–339.
- Glick, B. R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. Hindawi Publishing Corporation Scientifica, 2012, 1-15.
- Golezani, K. G., Noori, M., Oustan, S. and Moghaddam, M., 2009. Response of soybean cultivars to salinity stress. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 7 (2), 401 - 404.
- Gondim, F. A., Filho, E. G., Lacerda, C. F., Prisco, J. T., Neto, A. D. A. and Marques, E. C., 2010. Pretreatment with H₂O₂ in maize seeds: effects on germination and seedling acclimation to salt stress. *Braz. J. Plant Physiol.*, 22(2), 103-112.
- Gondim, F. A., Miranda, R. S., Filho, E. G. and Prisco, J. T., 2013. Enhanced salt tolerance in maize plants induced by H₂O₂ leaf spraying is associated with improved gas exchange rather than with non-enzymatic antioxidant system. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(4), 251-260.
- Gouia, H., Chorbal, M. H. and Touraine, B., 1994. Effects of NaCl on flows of N and mineral ions and on NO₃-reduction rate within whole plants of salt-sensitive bean and salt-tolerant cotton. *Plant Physiol.*, 105, 1409-1418.
- Grant, J. J. and Loake, G. J., 2000. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiol*, 124, 21–29.
- Guemouri, L., Artur, Y., Herbeth, B., Jeandel, C., Cuny, G. and Siest, G., 1991. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in blood. *Clin. Chem.*, 37 (11), 1932-1937.
- Guo, B., Liang, Y. and Zhu, Y., 2009. Does salicylic acid regulate antioxidant defense system, cell death, cadmium uptake and partitioning to acquire cadmium tolerance in rice? *Journal of Plant Physiology*, 166, 20-31.
- Gupta, B. and Huang, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. *International Journal of Genomics*, 2014, 1-18.
- Gutteridge, J. M. C., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, 41 (12), 1819-1828.
- Güneş, A., Adak, M.S., İnal, A., Alpaslan, M., Eraslan, F., Çiçek, N., Kayan, N. ve Soyulu, B., 2006. Mercimek ve nohut bitkilerinde kuraklığa bağlı oksidatif stres ve fizyolojik tolerans mekanizmalarının belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri*, Ankara.
- Haba, R. R., Arahall, D. R., Marquez, M. C. and Ventosa, A., 2010. Phylogenetic relationships within the family *Halomonadaceae* based on comparative 23S and 16S rRNA gene sequence analysis. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 737-748.
- Hakim, M., Juraimi, A. and Begum, M., 2010. Effect of salt stress on germination and early seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *African J.*, 9 (13), 1911-1918.
- Haleblian, S., Harris, B., Finegold, S. M. and Rolfe, R. D., 1981. Rapid method that aids in distinguishing Gram-positive from Gram-negative anaerobic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 13 (3), 444-448.
- Halliwell, B. and Gutteridge, M. C., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, 219, 1-14

- Halliwell, B., Clement, M.V. and Long, L.H., 2000. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Letters*, 486, 10-13.
- Halo, B. A., Khan, A. L., Waqas, M., Al-Harrasia, A., Hussain, J., Ali, L., Adnand, M. and Lee, I. J., 2015. Endophytic bacteria (*Sphingomonas* sp. LK11) and gibberellin can improve *Solanum lycopersicum* growth and oxidative stress under salinity. *Journal of Plant Interactions*, 10 (1), 117–125.
- Hamaoui, B., Abbadi, J. M., Burdman, S., Rashid, A., Sarig, S. and Okon, Y., 2001. Effects of inoculation with *Azospirillum brasilense* on chickpeas (*Cicer arietinum*) and faba beans (*Vicia faba*) under different growth conditions. *Agronomie*, 21, 553-560.
- Hamdia, M. A. S., Shaddad, M. A. K. and Doaa, M. M., 2004. Mechanisms of salt tolerance and interactive effects of *Azospirillum brasilense* inoculation on maize cultivars grown under salt stress conditions. *Plant Growth Regulation*, 44, 165-174.
- Hamed, R. R., Maharem, T. M., Fatah, M. M. A and Ataya, F. S., 1998. Purification of peroxidase isoenzymes from turnip roots. *Phytochemistry*, 48 (8), 1291-1294.
- Han, J., Sun, L., Dong, X., Cai, Z., Sun, X., Yang, H., Wang, Y. and Song, W., 2005. Characterization of a novel plant growth-promoting bacteria strain *Delftia tsuruhatensis* HR4 both as a diazotroph and a potential biocontrol agent against various plant pathogens. *Systematic and Applied Microbiology*, 28, 66–76.
- Hare, P. D., Cress, W. A. and Van Staden, J., 1998, Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stres. *Plant Cell Environment*, 21, 535-553.
- Hassan, W., Hussain, M., Bashir, S., Shah, A. N., Bano, R. and David, J., 2015. ACC-deaminase and/or nitrogen fixing rhizobacteria and growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2015, 15 (1), 232-248.
- Hassanshahian, M. and Mohamadian, J., 2011. Isolation and characterization of *Halobacterium salinarum* from saline lakes in Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 4 (1), 59-65.
- Hassen, A., Maher, S., Cherif, H., Hassen, A., Maher, S. and Cherif, H., 2014. Effect of salt stress (NaCl) on germination and early seedling parameters of three pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) effect of salt stress (NaCl) on germination and early seedling parameters of three pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 10(1), 14–25.
- Hayet, E., Maha, M., Mata, M., Mighri, Z., Laurent, G. and Mahjoub, A., 2010. Biological activities of *Peganum harmala* leaves. *African Journal of Biotechnology*, 9(48), 8199-8205.
- Heath, R. L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochem Biophys* 125 189-198.
- Heidari, M. and Jamshid, P., 2010. Interaction between salinity and potassium on grain yield, carbohydrate content and nutrient uptake in pearl millet. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 5 (6). 39-46.
- Heidari, M. and Golpeyegani, A., 2012. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 57–61.

- Hernandez; J.A., Olmos, E., corpas, F.J., Sevilla, F. and Del-Rio, L.A., 1995. Salt induced oxidative stres in cloroplasts of pea plants. *Plant. Science.*, 105, 151-167.
- Hodges, D. M., DeLong, J. M., Forney, C. F. and Prange, R. K., 1999. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
- Hontzeas, N., Richardson, A. O., Belimov, A., Safronova, V., Abu-Omar, M. M. and Glick, B. R., 2005. Evidence for Horizontal Transfer of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Deaminase Genes. *Applied and Environmental Microbiology*, Nov., 71 (11), 7556-7558.
- Hoque, A., Banu, N.A., Okuma, E., Amako, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y., 2007. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate–glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. *Journal of Plant Physiology*, 164, 1457—1468.
- Horemans, N., Foyer, C. H., Potters, G. and Asard, H., 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 38, 531-540.
- Hung, S. H., Yu, C. W. and Lin, C. H., 2005. Hydrogen peroxide functions as a stress signal in plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 46, 1-10.
- Hye, M. Z., Farooq, H. M., Zahir, Z. A., Hussain, M. and Hussain, A., 2014. Application of ACC-deaminase containing rhizobacteria with fertilizer improves maize production under drought and salinity stress. *Int. J. Agric. Biol.*, 16 (3), 591-596.
- İslam, F., Yasmeen, T., Ali, Q., Ali, S., Arif, M. S., Hussain, S. and Rizvi, H., 2014a. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104, 285-293.
- İslam, F., Yasmeen, T., Riaz, M., Arif, M. S., Ali, S. and Raza, S. H., 2014b. *Proteus mirabilis* alleviates zinc toxicity by preventing oxidative stress in maize (*Zea mays*) plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 110, 143-152.
- İsmail, M. A., 2013. Alleviation of salinity stress in white corn (*Zea mays* L.) plant by exogenous application of salicylic acid. *American Journal of Life Sciences*, 1(6), 248-255.
- İşler, E., 2009. Farklı aşılama yöntemleri ile bakteri (*Bradyrhizobium japonicum*) aşılmasının soyada azot fiksasyonuna ve tane verimine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- İqbal, M. A., 2014. Response of maize (*Zea mays*) to auxin producing plant growth promoting rhizobacteria under saline conditions. Degree of Doctor of Philosophy. Faculty of Agriculture University of Agriculture, Faisalabad.
- Jacoud, C., Faure, D., Wadoux, P. and Bally, R., 1998. Development of a strain-specific probe to follow inoculated *Azospirillum lipoferum* CRT1 under field conditions and enhancement of maize root development by inoculation. *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 43-51.
- James, R. A., Blake, C., Byrt, C. S. and Munns, R., 2011. Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany*, 62 (8), 2939–2947.

- Jetiyanon, K. and Kloepper, J. W., 2002. Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control*, 24, 285–291.
- Jha, Y., Subramanian, R. B. and Patel, S., 2011. Combination of endophytic and rhizospheric plant growth promoting rhizobacteria in *Oryza sativa* shows higher accumulation of osmoprotectant against saline stres. *Acta Physiol Plant*, 33, 797-802.
- Jha, Y. and Subramanian, R. B., 2014. PGPR regulate caspase-like activity, programmed cell death, and antioxidant enzyme activity in paddy under salinity. *Physiol Mol Biol Plants*, 20 (2), 201–207.
- Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T.V. and Wilson, M., 2006. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under Weld conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control*, 36, 358–367.
- Jiang, J., Wang, L., Zou, Y., Lu, W., Zhao, B., Zhang, B., Yang, S. and Yang, L., 2013. Identification of important charged residues for alkali cation exchange or pH regulation of NhaH, a Na⁺/H⁺ antiporter of *Halobacillus dabanensis*. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 1828, 997-1003.
- Kacar, B. ve İnal, A., 2008. Bitki analizleri. Nobel Yayın Dağıtım, 892, Ankara.
- Kacar, B., Katkat, V. ve Öztürk, Ş., 2009. Bitki Fizyolojisi. Nobel yayınevi, 570, Ankara.
- Kacar, B. 2014. Kolay uygulanabilir bitki analizleri. Nobel Yayın Dağıtım, 404, Ankara.
- Kadayıfçı, A., Tüylü, G. İ. ve Uçar, Y., 2004. Sulama suyu tuzluluğunun soğan bitkisinin yumru verimi, bitki su tüketimi ve toprak profili üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 10 (1), 45-49.
- Kara, B., Akgün., İ. ve Altındal., D., 2011. Tritikale genotiplerinde çimlenme ve fide gelişimi üzerine tuzluluğun (NaCl) etkisi. *Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25 (1), 1-9.
- Karadağ, F., 2013. Farklı dozlarda selenyum uygulamalarının Haşhaş (*Papaver somniferum* L.) yapraklarında antioksidan enzimler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat
- Karagüzel, O., 2003. Farklı tuz kaynak ve konsantrasyonlarının güney anadolu doğal *Lupinus varius* tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16 (2), 211-220.
- Karali, D., Oxley, D., Runions, J., Ktistakis, N. and Farmaki, T., 2012. The *Arabidopsis thaliana* Immunophilin ROF1 Directly Interacts with PI(3)P and PI(3,5)P₂ and Affects Germination under Osmotic Stress. *Plos One*, 7 (11), 1-15.
- Karlıdağ, H., Yıldırım, E., Turan, M., Pehlivan, M. and Dönmez, F., 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria mitigate deleterious effects of salt stress on strawberry plants (*Fragaria x ananassa*). *Hortscience*, 48 (5), 563-567.
- Kausar, R. and Shahzad, S. M., 2006. Effect of ACC-deaminase containing rhizobacteria on growth promotion of maize under salinity stress. *Journal Of Agriculture & Social Sciences*, 2 (4), 216-218.
- Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D. And Samiyappan, R., 2010. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 45, 71–77.

- Kaya, C., Tuna, A. L. and Okant, A. M., 2010. Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. *Turk J. Agric. For.*, 34, 529-538.
- Kaya, C., Aydemir, S., Sönmez, O., Ashraf, M. and Dikilitaş, M., 2013. Regulation of growth and some key physiological processes in salt-stressed maize (*Zea Mays* L.) plants by exogenous application of asparagine and glycerol. *Acta Bot. Croat.*, 72 (1), 157–168.
- Kaya, C., Ashraf, M., Sönmez, O., Tuna, A. L. And Aydemir, S., 2015. Exogenously applied nitric oxide confers tolerance to salinity-induced oxidative stress in two maize (*Zea mays* L.) cultivars differing in salinity tolerance. *Turk J. Agric. For.*, 39, 909-919.
- Keyster, M., Klein, A. and Ludidi, N., 2012. Caspase-like enzymatic activity and the ascorbate-glutathione cycle participate in salt stress tolerance of maize conferred by exogenously applied nitric oxide. *Plant Signaling & Behavior*, 7 (3), 1-12.
- Khalid, M. N., Iqbal, H. F., Tahir, A. and Ahmad, A. N., 2001. Germination potential of chickpeas (*Cicer arietinum* L.) under saline condititions. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4 (4), 395-396.
- Khan, M. A. and Ungar, I. A., 1998. Germination of the salt tolerant shrub *SuaedaFruticosa* From Pakistan: salinity and temperature responses. *Seed Sci. And Technol.*, 26, 657-667.
- Khan, M. G. and Srivastava, H. S., 1998. Changes in growth and nitrogen assimilation in maize plants induced by NaCl and growth regulators. *Biologia Plantarum*, 41 (1), 93-99.
- Khan, N. A., Syeed, S., Masood, A., Nazar, R. and Iqbal, N., 2010. Application of salicylic acid increases contents of nutrients and antioxidative metabolism in mungbean and alleviates adverse effects of salinity stres. *International Journal of Plant Biology*, 1 (1), 1-8.
- Khan, T. A., Mazid, M., Mohammad, F., 2011. A review of ascorbic acid potentialities against oxidative stres induced in plants. *J. Agrobiol.*, 28 (2), 97–111.
- Kheiralla, Z. H., Ashour, S. M., Rushdy, A. A. and Ahmed, H. A., 2013. Characterization of biosurfactants produced by *Halobacillus dabanensis* and *Pontibacillus chungwhensi* isolated from oil-contaminated mangrove ecosystem in egypt. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49 (3), 263-269.
- Kholova, J., R. K. Sairam and R. C. Meena, 2010. Osmolytes and metal ions accumulation, oxidative stress and antioxidant enzymes activity as determinants of salinity stress tolerance in maize genotypes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 32, 477-486.
- Keser, Ö., Çolak, G. ve Caner, N., 2009. Tuza toleransı farklı iki kültür bitkisinde bazı fizyolojik ve makromorfolojik parametreler üzerine Na₂CO₃ tipi tuz stresi etkileri. *BAÜ FBE Dergisi*, 11(2), 64-80.
- Kim, C. Y., Lee, S. H., Park, H. C., Bae, C. G., Cheong, Y. H., Choi, Y. J., Han, C., Lee, S. Y., Lim, C. O. and Cho, M. J., 2000. Identification of rice blast fungal elicitor-responsive genes by differential display analysis. *MPMI*, 13 (4), 470–474.
- Koca, H., Bor, M., Özdemir, F. and Türkan, İ., 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 344-351.

- Kocaçalışkan, İ., 2008. Bitki fizyolojisi. Nobel yayınevi, 316, Ankara.
- Koç, A., 2015. Effect of plant growth-promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on lipid peroxidation and total phenolics of strawberry (*Fragaria × ananassa* ‘San Andreas’) under salt stres. Turk J. Agric. For., 39, 992-998.
- Kohler, J., Hernandez, J. A., Caravaca, F. and Roldan, A., 2009. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stres. Environmental and Experimental Botany, 65, 245–252.
- Kosack, K. E. H. and Jones, J. D., 1996, Resistance genedependent plant defense responses. Plant Cell, 8, 1773–1791.
- Kökten, K., Karaköy, T., Bakoğlu, A. and Akçura, M., 2010. determination of salinity tolerance of some lentil (*Lens culinaris* M.) varieties. J. Food, Agric. Environ., 8 (1), 140–143.
- Kumar, G. N. M. and Knowles, N. R., 1993. Changes in lipid peroxidation and lipolytic and free-radical scavenging enzyme activities during aging and sprouting of potato (*Solanum tuberosum*) seed-tubers. Plant Physiol., 102, 115-124.
- Laemmli, U. K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 227, 680 – 685.
- Laloi, C., Apel, K. and Danon, A., 2004. Reactive oxygen signalling: the latest news. Current Opinion in Plant Biology, 7, 323–328.
- Lamchouri, F., 2014. Antitumor properties and toxicity effects of *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae). Plant Science Today, 1(4), 192-195.
- Lea, U. S., Ten Hoopen, F., Provan, F., Kaiser, W. M., Meyer, C. and Lillo, C., 2004. Mutation of the regulatory phosphorylation site of tobacco nitrate reductase results in high nitrite excretion and NO emission from leaf and root tissue. Planta, 219, 59– 65.
- Lee, T. M. and Lin, Y. H., 1996. Peroxidation activity in relation to ethylene induced rice (*Oryza sativa* L.) coleoptile elongation. Bot. Bul. Acad. Sin., 37 (4), 239-245.
- Lee, J., Koo, N. and Min, D.B., 2004. Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative, Nutraceuticals. Comprehensive Reviews in Food Science And Food Safety, 3, 21-33.
- Li, J., Ovakim, D. H., Charles, T. C. and Glick, B. R., 2000. An ACC Deaminase minus mutant of *Enterobacter cloacae* UW4 no longer promotes root elongation. Current Microbiology, 41, 101–105.
- Liu, Z. J., Guo, Y. K., Bai, J. G., 2010. Exogenous hydrogen peroxide changes antioxidant enzyme activity and protects ultrastructure in leaves of two cucumber ecotypes under osmotic stress. J. Plant Growth Regul., 29, 171–183.
- Lodhi, M. A. K. and Ruess, R. W., 1998. Variation in soil nitrifiers and leaf nitrate reductase activity of selected tree species in a forest community. Soil Biology and Biochemistry, 20 (6), 939-943.
- Mahajan, S. and Tuteja, N., 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics, 444, 139-158.
- Mansour, M. M. F., Salama, K. H. A., Ali, F. Z. M. and Hadid, A. F. A., 2005. Cell and plant responses to nacl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. Gen. Appl. Plant Physiology, 31(1-2), 29-41.

- Marikovsky, M., Ziv, V., Nevo, N., Harris-Cerruti, C. and Mahler, O., 2003. Cu/Zn superoxide dismutase plays important role in immune response. *The Journal of Immunology*, 22, 2993-3001.
- Marulanda, A., Azcon, R., Chaumont, F., Lozano, J. M. R. and Aroca, R., 2010. Regulation of plasma membrane aquaporins by inoculation with a *Bacillus megaterium* strain in maize (*Zea mays* L.) plants under unstressed and salt-stressed conditions. *Planta*, 232, 533-543.
- Masoudi, S., Ameri, N., Rustaiyan, A., Moradalizadeh, M. and Azar, P. A., 2005. Volatile constituents of three umbelliferae herbs: *Azilia eryngioedes* (Pau) Hedge et Lamond, *Laser trilobum* (L.) Borkh. and *Falcaria falcarioides* (Bornm. et Wolff) Growing Wild in Iran. *J. Essent. Oil Res.*, 17 (1), 98-100.
- Mansour, M. M. F., Salama, K. H. A., Ali, F. Z. M. and Hadid, A. F. A., 2005. Cell and plant responses to nacl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. *Gen. Appl. Plant Physiology*, 31(1-2), 29-41.
- Matysik, J., Alia, P.S.P., Bhalu, B. and Mohanty, P., 2002, Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stres in plants. *Curr. Sci.*, 82, 525-532.
- Mayak, S., Triosh, T. and Glick, B.R., 2004. Plant growth-promoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stres. *Plant Physiology and Biochemistry*, 42, 565-572.
- Maynard, H. and David, O., 1987. *The physiology of plants under stress*. Wiley, 206, USA.
- Mazi, F. ve Tan, M., 2009. Nüfus artışı, kaynak tüketimi ve çevre. *Mevzuat Dergisi*, 12 (136).
- Mcclung, C. R., 1997. Regulation of catalases in *Arabidobsis*. *Free Radical Biology & Medicine*, 23 (3), 489-496.
- McMillan, S., 2007. Promoting growth with PGPR. *The Canadian Organic Grower*, [http://www.cog.ca/documents/07SU_PGPR.pdf\(17.12.2011\)](http://www.cog.ca/documents/07SU_PGPR.pdf(17.12.2011)).
- Meloni, D.A., Gulotta, M.R., Martínez, C.A. and Oliva, M.A., 2004. The effects of salt stress on growth, nitrate reduction and proline and glycinebetaine accumulation in *Prosopis alba*. *Braz. J. Plant Physiol.*, 16(1), 39-46.
- Meneguzzo, S., Izzo, F.N. and Izzo, R., 1999. Antioxidative responses of shoots and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. *J. Plant Physiol.*, 155, 274-280.
- Miller, A.F., 2001. Fe Superoxide dismutase. *Handbook of metalloproteins*, Albrecht Messerschmidt, Robert Huber, Thomas Poulos and Karl Wieghardt. Chemistry Department, University of Kentucky, USA, 668-682.
- Minibaeva, F.V. and Gordon, L.K., 2003. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. *Russian Journal of Plant Physiology*, 50(3), 411-416.
- Mir, B.A., Mir, S.A., Khazird, J., Tonfacke, L.B., Cowanb, D.A., Vyasa, D. and Koula, S., 2015. Cold stress affects antioxidative response and accumulation of medicinally important withanolides in *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Industrial Crops and Products*, 74, 1008–1016.
- Miyake, C. And Asada, K., 1996. Inactivation mechanism of ascorbate peroxidase at low concentrations of ascorbate; hydrogen peroxide decomposes compound of ascorbate peroxidase. *plant CellPhysiol.*, 37(4), 423-430.

- Molazem, D., Qurbanov, E. M. and Dunyamaliyev, S. A., 2010. Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays* L.). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 9 (3), 319-324.
- Molazem, D. and Bashirzadeh, A., 2015a. Impact of salinity stress on proline reaction, peroxide activity, and antioxidant enzymes in maize (*Zea mays* L.). Pol. J. Environ. Stud., 24 (2), 597-603.
- Molazem, D. and Azimi, J., 2015b. Morpho-Physiological Characterization in Eight Varieties of Maize (*Zea mays* L.) under Soil Salinity. Pol. J. Environ. Stud. 24 (6), 2537-2542.
- Mueller, J. K., Heckathorn, S. A. and Fernandot, D., 2003. Identification of a chloroplast dehydrin in leaves of mature plants. Int. J. Plant Sci., 164 (4), 535-542.
- Muneer, S., Park, Y. G., Manivannan, A., Soundararajan, P. and Jeong, B. R., 2014. Physiological and Proteomic Analysis in Chloroplasts of *Solanum lycopersicum* L. under Silicon Efficiency and Salinity Stress. International Journal of Molecular Sciences, 15, 21803-21824.
- Mutlu, S., Atıcı, Ö. and Nalbantoglu, B., 2009a. Effects of salicylic acid and salinity on apoplastic antioxidant enzymes in two wheat cultivars differing in salt tolerance. Biologia Plantarum, 53(2), 334-338.
- Mutlu, S., 2009b. Salisilik asidin arpada (*Hordeum vulgare* L.) soğuk toleransını sağlama ve apoplastik ile simplastik proteinler üzerine etkilerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M., Arshad, M. and Shahzad, S. M., 2006. Variation in growth and ion uptake of maize due to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria under salt stres. Soil & Environ., 25(2), 78-84.
- Nadeem, S. M., Zahir, Z. A., Naveed, M. and Arshad, M., 2009. Rhizobacteria containing ACC-deaminase confer salt tolerance in maize grown on salt-affected fields. Canadian Journal of Microbiology, 55 (11), 1302-1309.
- Nagaoka, S. and Takano, T., 2003. Salt tolerance-related protein STO binds to a Myb transcription factor homologue and confers salt tolerance in *Arabidopsis*. Journal of Experimental Botany, 54 (391), 2231-2237.
- Nakagawa, H., Poulle, M. and Oaks, A., 1984. Characterization of nitrate reductase from corn leaves (*Zea mays* cv W64A x W182E). Plant Physiol., 75, 285-289.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant & Cell Physiol., 22(5), 867-880.
- Nakano, Y. and Asada, K., 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant and Cell Physiology, 28 (1), 131-140.
- Naseem, H. and Bano, A., 2014. Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. Journal of Plant Interactions, 9 (1), 689-701.
- Navrot, N., Collin, V., Gualberto, J., Gehaye, E., Hirasawa, M., Rey, P., Knaff, D.B., Issakidis, E., Jacquot, J.P. and Rouhier, N., 2006. Plant glutathione peroxidases are functional peroxiredoxins distributed in several subcellular compartments and regulated during biotic and abiotic stresses. Plant Physiology, 142, 1362-1379.

- Naz, R. and Bano, A., 2013. Influence of exogenously applied salicylic acid and plant growth promoting rhizobacteria inoculation on the growth and physiology of sunflower (*Helianthus annuus* L.) under salt stress. *Pak. J. Bot.*, 45 (2), 367-373
- Neill, S. J., Desikan, R., Clarke, A., Hurst, R. D. and Hancock, J.T., 2002. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *Journal of Experimental Botany*, 53, 1237-1247.
- Neto, A. D. A., Prisco, J. T., Filho, J. E., Medeiros, J. V. R. and Filho E. G., 2005. Hydrogen peroxide pre-treatment induces saltstress acclimation in maize plants. *Journal of Plant Physiology*, 162, 1114-1122.
- Neto, A. D. A., Prisco, J. T., Filho, J.E., Abreu, C. E. B. and Filho, E. G., 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt-tolerant and salt-sensitive maize genotypes. *Environmental and Experimental Botany*. 56, 87-94.
- Nia, S. H., Zarea, M. J., Rejali, F. and Varma, A., 2012. Yield and yield components of wheat as affected by salinity and inoculation with *Azospirillum strains* from saline or non-saline soil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 11, 113-121.
- Ning, J., Ai, S., Yang, S., Cui, L., Chen, Y., Sun, L., Wang, R., Li, M. and Zeng, Z., 2015. Physiological and antioxidant responses of *Basella alba* to NaCl or Na₂SO₄ stress. *Acta Physiol Plant*, 37, 115-126.
- Nishiyama, H., Danno, S., Kaneko, Y., Itoh, K., Yokoi, H., Fukumoto, M., Okuno, H., Millan, J. L., Matsuda, T., Yoshida, O., and Fujita, J., 1998. Decreased expression of Cold-Inducible RNA-Binding Protein (CIRP) in male germ cells at elevated temperature. *American Journal of Pathology*, 152 (1), 289-296.
- Noctor, G. and Foyer, C. H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under contro. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.
- Noctor, G., Jovanovic, S. V., Driscoll, S., Novitskaya, L. and Foyer, C. H., 2002. Drought and oxidative load in the leaves of C₃ Plants: a predominant role of photorespiration. *Annals of Botany*, 89, 841-850.
- Noumavo, P. A., Kochoni, E., Didagbe, Y. O., Adjanohoun, A., Allagbe, M., Sikirou, R., Gachomo, E. W., Kotchoni, S. O. and Moussa, L. B., 2013. Effect of different plant growth promoting rhizobacteria on maize seed germination and seedling development. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1013-1021.
- Okçu, G., Kaya, M.D. and Atak, M., 2005. Effects of salt and drought stresses on germination and seedling growth of pea (*Pisum sativum* L.). *Turk. J. Agric. For.*, 29, 237-242.
- Ologundudu, A.F., Adelusi, A.A. and Akinwale, R.O., 2014. Effect of salt stress on germination and early seedling growth of rice (*Oryza Sativa* L.), *Notulea Sci. Biol.*, 6(2), 237-243.
- Öncel, I. ve Keleş, Y., 2002. Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23 (2), 8-16.
- Özdiş, Ö., 2005. Krom (VI) birikiminin *Chlorella vulgaris* 'te hücre sayısı, klorofil, büyüme hızı, protein ve şeker miktarlarına etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Özel, G. S. K. ve Birdane. Y. O., 2014. Antioksidanlar. *Kocatepe Vet. J.*, 7(2): 41-52.

- Özüsağlam, M. A., Erzen, M., Darılmaz, D. Ö., Erkul, S. H., Teksen, M. and Karakoca, K., 2015. Antimicrobial and antioxidant activity of various solvent extracts of *Salsola stenoptera* Wagenitz and *Petrosimonia nigdeensis* Aellen (Chenopodiaceae) Plants. *Chiang Mai. J. Sci.*, 42 (1), 156-172.
- Pardo, J. M. and Quintero, F. J., 2002. Plants and sodium ions: keeping company with the enemy. *Genome Biology*, 3 (6), 1-4.
- Polyanskaya, L. M., Vedina, O.T., Lysak, L.V. and Zvyagintsev, D.G., 2002. The growth-promoting effect of *Beijerinckia mobilis* and *Clostridium* sp. cultures on some agricultural crops. *Microbiology*, 71(1), 109-115.
- Pamplona, R., 2008. Membrane phospholipids, lipoxidative damage and molecular integrity: A causal role in aging and longevity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1777, 1249–1262.
- Parida, A. K., Das, A. B. and Mitra, B., 2003. Effects of NaCl stress on the structure, pigment complex composition, and photosynthetic activity of mangrove *Bruguiera parviflora* chloroplasts. *Photosynthetica*, 41 (4), 191-200.
- Parida, A. K. and Das, A. B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60, 324-349.
- Paul, D. and Nair, S., 2008. Stress adaptations in a Plant Growth Promoting Rhizobacterium (PGPR) with increasing salinity in the coastal agricultural soils. *Journal of Basic Microbiology*, 48, 378–384.
- Penrose, D. M. and Glick, B. R., 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118, 10–15.
- Pereira, G. J. G., Molina, S. M. G., Lea, P. J. and Azevedo, R. A., 2002. Activity of antioxidant enzymes in response to cadmium in *Crotalaria juncea*. *Plant and Soil*, 239, 123-132.
- Pereira, E. J., Panek, A. D. and Eleutherio, E. C. A., 2003. Protection against oxidation during dehydration of yeast. *Cell Stress & Chaperones*, 8 (2), 120–124.
- Piotrovskii, M.S., Shevyreva, T.A., Zhestkova, I.M. and Trofimova, M.S., 2011. Activation of plasmalemmal NADPH oxidase in etiolated maize seedlings exposed to chilling temperatures. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58 (2), 290–298.
- Plett, D. C. and Moller, I. S., 2010. Na⁺ transport in glycophytic plants: what we know and would like to know. *Plant, Cell and Environment*, 33, 612–626.
- Polle, A., 2001. Dissecting the superoxide dismutase-ascorbate- glutathione-pathway in chloroplasts by metabolic modeling. *Computer Simulations as a Step towards Flux Analysis. Plant Physiol.*, 126, 445 – 462.
- Qurashi, A. W. and Sabri, A. N., 2012. Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and Soil aggregation under salt stress. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43 (3), 1183-1191.
- Radic, V., Beatovic, D. and Mrda, J., 2007. Salt tolerance of corn genotypes (*Zea mays* L.) during germination and later growth. *Journal of Agricultural Sciences*, 52 (2), 115-120.
- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H., 2005. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. *Biologia Plantarum*, 49 (1), 93-97.

- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H., 2006. Antioxidant isozymes activities in potato plants (*Solanum tuberosum* L.) under salt stress. *Journal of Sciences*, 17(3), 225-230.
- Rajput, L., İmran, A., Mubeen, F. And Hafeez, F. Y., 2013. Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietoensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivated in saline soil. *Pak. J. Bot.*, 45(6): 1955-1962.
- Ramadoss, D., Lakkineni, V. K., Bose, P., Ali, S. and Annapurna, K., 2013. Mitigation of salt stress in wheat seedlings by halotolerant bacteria isolated from saline habitats. *SpringerPlus*, 2013, 2-6.
- Ranieri, A., Castagna, A., Baldan, B. Soldatini, G. F., 2001. Iron deficiency differently affects peroxidase isoform in sunflower. *Journal of Experimental Botany*, 52 (352), 25-35.
- Reda, M., Migocka, M. and Klobus, G., 2011. Effect of short-term salinity on the nitrate reductase activity in cucumber roots. *Plant Science*, 180, 783-788.
- Roach, T., 2009. Extracellular production of reactive oxygen species in response to abiotic stress in seeds. Thesis (Ph. D.), University College, London.
- Rohanipoor, A., Norouzi, M., Moezzi, A. and Hassibi, P., 2013. effect of silicon on some physiological properties of maize (*Zea mays*) under salt stress. *J. Biol. Environ. SCI.*, 7 (20), 71-79.
- Roy, S. and Chakraborty, U., 2014. Salt tolerance mechanisms in Salt Tolerant Grasses (STGs) and their prospects in cereal crop improvement. *Botanical Studies*, 55 (31), 1-9.
- Saber, Z., Pirdashti, H. and Heidarzade, A., 2013. Plant growth promoting rhizobacteria effects on yield and yield components of four rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars under salt condition. *Intl. J. Agri. Crop. Sci.*, 5 (17), 1869-1873.
- Sacala, E., Demczuk, A., Grzys, E. and Sobczak, A., 2002. The effect of salt stress on growth and biochemical parameters in two maize varieties. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 71 (2), 101-107.
- Sacala, E., Demczuk, A., Grzys, E. and Spiak, Z., 2008. Effect of salt and water stresses on growth, nitrogen and phosphorus in metabolism in *Cucumis sativus* L. seedlings. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 77 (1), 23-28.
- Sadak, M. S., Dawood, M. G., Bakry, B. A. and El-Karamany M. F., 2013. Synergistic effect of indole acetic acid and kinetin on performance, some biochemical constituents and yield of faba bean plant grown under newly reclaimed sandy soil. *World Journal of Agricultural Sciences*, 9 (4), 335-344.
- Sadrnia, M., Maksimava, N., Khromsova, E., Stanislavich, S., Owlia, P. and Arjomandzadegan, M., 2011. Study the effect of bacterial 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (acc deaminase) on resistance to salt stress in tomato plant. *Analele Universității din Oradea - Fascicula Biologie*, 2, 120-123.
- Sairam, Y. K. and Srivastava, G. C., 2000. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 162, 897-904.
- Sarig, S., Blum, A. and Okon, Y., 1988. Improvement of the water status and yield of field-grown grain sorghum (*Sorghum bicolor*) by inoculation with *Azospirillum brasilense*. *J. agric. Sci., Camb.*, 110, 271-277.

- Saroop, S., Chanda, S. V. and Singh, Y. D., 2002. Changes in soluble and ionically bound peroxidase activities during brassica juncea seed development. *Bulg. J. Plant Physiol.*, 28(3-4), 26-34.
- Saruhan, V., Üzen, N., Eylen, M. ve Çetin, Ö., 2008. Toprak tuzluluğunun kültür bitkilerine etkileri ve alınabilecek somut öneriler. Sulama- Tuzlanma Konferansı, Şanlıurfa. http://makinecim.com/bilgi_56278_TOPRAK-TUZLULUGUNUN-KULTUR-BITKILERINE-ETKILERI- (15.01.2015)
- Saubidet, M. I., Fatta, N. and Barneix, A. J., 2002. The effect of inoculation with *Azospirillum brasilense* on growth and nitrogen utilization by wheat plants. *Plant and Soil*, 245, 215-222.
- Schaedle, M. and Bassham, J. A. 1977. Chloroplast glutathione reductase. *Plant Physiology*, 59, 1011-1112.
- Schützendübel, A. and Polle, A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *Journal of Experimental Botany*, 53 (372), 1351-1365.
- Seçkin, B., 2010. Tuzluluk stresinin bazı arpa (*Hordeum* spp) türleri üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Sen, S. And Chandrasekhar, C. N., 2014. Effect of PGPR on growth promotion of rice (*Oryza sativa* L.) under salt stress. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 4 (5), 62-67.
- Sese, M. L. D. and Tobita, S., 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135, 1-9.
- Shahzad, S. M., Khalid, A., Arshad, M. and Rehman, K., 2010. Screening rhizobacteria containing ACC-deaminase for growth promotion of chickpea seedlings under axenic conditions. *Soil & Environ.*, 29 (1), 38 – 46.
- Shahzad, S. M., Arif, M. S., Riaz, M., Iqbal, Z. and 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.
- Shalata, A. and Neumann, P. M., 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduced lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 52 (364), 2207-2211.
- Shan, C., Liu, H., Zhao, L. and Wang, X., 2014. Effects of exogenous hydrogen sulfide on the redox states of ascorbate and glutathione in maize leaves under salt stress. *Biologia Plantarum*, 58 (1), 169-173.
- Shaner, D. L. and Boyer, J. S., 1976. Nitrate reductase activity in maize (*Zea mays* L.) leaves. *Plant Physiol.*, 58, 499-504.
- Sharifi, R. S. and Khavazi, K., 2011. Effects of seed priming with Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on yield and yield attribute of maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9 (3-4), 496-500.
- Shen, B., Jensen, R.C. and Bohnert, H., 1997. Mannitol Protects against Oxidation by Hydroxyl Radicals. *Plant Physiol.*, 115, 527-532.
- Shereefa, L. A. H. and Kumaraswamy, M., 2016. Reactive oxygen species and ascorbate-glutathione interplay in signaling and stress responses in *Sesamum*

- orientale* L. against *Alternaria sesami* (Kawamura) Mohanty and Behera. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 15, 48–56.
- Shi, Q., Ding, F., Wang, X. and Wei, M., 2007. Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 45, 542-550.
- Shi, Y. W., Lou, K., Li, C., Wang, L., Zhao, Z. Y., Zhao, S. and Tian, C., Y., 2015. Illumina-based analysis of bacterial diversity related to halophytes *Salicornia europaea* and *Suaeda aralocaspica*. Journal of Microbiology, 53 (10), 678-685.
- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Taketa, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, Y., 2002. Regulation of function of ascorbate peroxidase isoenzymes. Journal of Experimental Botany, 53 (372), 1305-1319.
- Shivanand, P. and Mugeraya, G., 2011. Halophilic bacteria and their compatible solutes – osmoregulation and potential applications. Current Science, 100 (10), 1516-1521.
- Shukla, S. And Goyal, A., 2011. 16S rRNA-Based Identification of a Glucan-Hyperproducing *Weissella confusa*. SAGE-Hindawi Access to Research, 2011, 1-10.
- Siddique, M.A., Chauhan, P.S., Anandham, R., Han, G.H. and Sa, T., 2010. Isolation, characterization, and use for plant growth promotion under salt stress, of ACC deaminase-producing halotolerant bacteria derived from coastal soil. J. Microbiol. Biotechnol., 20(11), 1577–1584.
- Silveira, J.A.G., Cardoso, B.B., Melo, A.R.B. and Viegas, R.A., 1999. Salt-induced decrease in nitrate uptake and assimilation in cowpea plants. Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, 11 (2), 77-82.
- Singh, N. B., Singh, A. and Singh, D., 2010. Autotoxicity of maize and its mitigation by plant growth promoting rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa*, Allelopathy Journal, 25 (1), 195-204.
- Sivritepe, N., 2001. Doğada oksidatif stres: asma, üzüm ve şarapta antioksidantlar. Anadolu, J. of AARI, 11 (2), 108–135.
- Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D., Fujimoto, E. K., Goeke, N. M., Olson, B. J. and Klenk, D. C., 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Analytical Biochemistry, 150, 76-85.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A., 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. Int. J. Mol. Sci., 16, 13561-13578.
- Soleimanpour, M., Koocheki, A. and Kadkhodae, R., 2013. Effect of *Lepidium perfoliatum* seed gum addition on whey protein concentrate stabilized emulsions stored at cold and ambient temperature. Food Hydrocolloids, 30, 292-301.
- Steel, C. C. and Greer, L.A., 2005. Catalase activity and susceptibility of grapevine callus culture (cv. Cabernet Sauvignon) to *Botrytis cinerea* infection: Effects of UV-B exposure. Vitis, 44 (3), 149–150.
- Smirnoff, N., 2000. Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. Current Opinion in Plant Biology, 3, 229-235.
- Spiteller, G., 2001. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. Experimental Gerontology, 36, 1425-1457.

- Szalai, G., Paldi, E. and Janda, T., 2005. Effect of salt stress on the endogenous salicylic acid content in maize (*Zea mays* L.) plants. Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis, 49 (1-2), 47-48.
- Şahin, F., Çakmakçı, R. and Kantar, F., 2004. Sugar beet and barley yields in relation to inoculation with N₂-fixing and phosphate solubilizing bacteria. Plant and Soil, 265, 123-129.
- Şenses, S.V., Özyazgan, S. ve Akkan, A.G., 1999. Serbest oksijen radikalleri – I: Vücudtaki antioksidan sistemler. Türk Aile Hek. Derg., 3(1), 5-11.
- Taban, S. and Katkat, V., 2000. Effect of salt stress on growth and mineral elements concentrations in shoot and root of maize plant. Tarım Bilimleri Dergisi, 6 (2), 119-122.
- Taiz and Zeiger., 2008. Bitki Fizyolojisi. Palme Yayınevi, 718, Ankara.
- Tanaka, Y., Hibino, T., Hayashi, Y., Tanaka, A., Kishitani, S. and Takabe, T.S., 1999, Salt tolerance of transgenic rice overexpressing yeast mitochondrial Mn-SOD in chloroplasts, Plant Sci, 148, 131–138.
- Tank, N. and Saraf, M., 2010. Salinity-resistant plant growth promoting rhizobacteria ameliorates sodium chloride stress on tomato plants. Journal of Plant Interactions, 5 (1), 51-58.
- Tapias, D. R., Galvan, A. M., Diaz, S. P., Obando, M., Rivera, D., Bonilla, R., 2012. Effect of inoculation with plant growth-promoting bacteria (PGPB) on amelioration of saline stress in maize (*Zea mays*). Applied Soil Ecology, 61, 264-272.
- Taşğın, E., Atıcı, Ö. and Nalbantoğlu, B., 2003. Effects of salicylic acid and cold on freezing tolerance in winter wheat leaves. Plant Growth Regulation, 41, 231–236.
- Taşğın, E., Atıcı, Ö. and Nalbantoğlu, B. and Popova, L. V., 2006. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. Phytochemistry, 67, 710-715.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P. and 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.
- Tıprıdamaz, R., Duman, H. ve Baysal, G., 2010. Tuz Gölü ve çevresindeki bazı endemik halofit bitkilerin ekofizyolojisi. Tübitak, Ankara.
- Tindall, B.J., 1991. Cultivation and preservation of members of the family Halobacteriaceae. World J. Microbiol Biotechnol, 7 (1), 95-98.
- Tuna, A. L., Kaya, C., Altunlu, H. and Ashraf, M., 2013. Mitigation effects of non-enzymatic antioxidants in maize (*Zea mays* L.) plants under salinity stress. AJCS, 7 (8), 1181-1188.
- Turan, M. A., Elkarim, A. H. A., Taban, N. and Taban, S., 2009. Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. African Journal of Agricultural Research, 4 (9), 893-897.
- Turan, M. A., Elkarim, A. H. A., Taban, N. and Taban, S., 2010. Effect of salt stress on growth and ion distribution and accumulation in shoot and root of maize plant. African Journal of Agricultural Research, 5(7), pp. 584-588.

- Turan, M., Güllüce, M., Çakmak, R. and Şahin, F., 2013. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria strain on freezing injury and antioxidant enzyme activity of wheat and barley. *Journal of Plant Nutrition*, 36, 731-748.
- Türkan, İ., Bor, M., Özdemir, F. and Koca, H., 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168, 223-231.
- Türkan, İ. and Demiral, T., 2009. Recent developments in understanding salinity tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 67, 2-9.
- Türkmen, Ö., Şensoy, S. ve Erdal, İ., 2000. Effect of potassium on emergence and seedling growth of cucumber grown in salty conditions. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 10(1), 113-117.
- Uchida, A., Jagendorf, A. T., Hibino, T., Takabe, T. And Takabe, T., 2002. Effects of hydrogen peroxide and nitric oxide on both salt and heat stress tolerance in rice. *Plant Science*, 163, 515-523.
- Ulah, S., Mumtaz, A. and Bano, A., 2013. Effect of PGPR on growth and performance of *Zea mays*. *Research Journal of Agriculture and Environmental Management*, 2 (12), 434-447.
- Ullah, S. and Bano, A., 2015. Isolation of plant-growth-promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of halophytes and their impact on maize (*Zea mays* L.) under induced soil salinity. *Canadian Journal of Microbiology*, 61 (4), 307-313.
- Ünlükara, A., Bilal, C. ve Karadavut, S., 2006. Farklı çevre koşulları ile sulama suyu tuzluluğu ilişkilerinin domatesin büyüme, gelişme, verim ve kalitesi üzerindeki etkileri. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(1), 15-23.
- Vanacker, H., Carver, T. L. W. and Foyer, C. H., 1998. Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. *Plant Physiol.*, 117, 1103-1114.
- Ventosa, A., 2006. Unusual micro-organisms from unusual habitats: hypersaline environments. *SGM symposium*, 66, 223-253.
- Viegas, R.A., Melo, A.R.B. and Silveira, J.A.G., 1999. Nitrate reductase activity and proline accumulation in cashew in response to NaCl salt shock. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 11(1), 21-28.
- Wahab, A. M. A. and Zahran, H. H., 1981. Effects of salt stress on nitrogenase activity and growth of four legumes. *Biologia Plantarum*, 23 (1), 16-23.
- Wahid, W., Perveen, M., Gelani, S. and Basra, S. M. A., 2006. Pretreatment of seed with H₂O₂ improves salt tolerance of wheat seedlings by alleviation of oxidative damage and expression of stress proteins. *Journal of Plant Physiology*, 164, 283-294.
- Walpola, B. C., Arunakumara, K. K. I. U. and Yoon, M. H. ,2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria (*Klebsiella oxytoca*) with enhanced tolerant to environmental stress. *African Journal of Microbiology Research*, 8 (31), 2970-2978.
- Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218, 1-14.

- Wu, T. M., Hsu, Y. T. And Lee, T. M., 2009. Effects of cadmium on the regulation of antioxidant enzyme activity, gene expression, and antioxidant defenses in the marine macroalga *Ulva fasciata*. *Botanical Studies*, 50, 25-34.
- Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H. and Cui, L., 2006. Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultrastructure of chloroplasts in two cool-season turfgrass species under heat stress. *Environmental and Experimental Botany*, 56, 274-285.
- Xiu, J. Y. and Dong, H. X., 2007. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on the seedling growth of oat and annual ryegrass under salt stress. *International Symposium on Environmental Science and Technology*, 11 (13), 1192-1196.
- Yağmur, Y., 2008. Farklı asma (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin kuraklık stresine karşı bazı fizyolojik ve biyokimyasal tolerans parametrelerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Yakıt, S. ve Tuna, A. L., 2006. Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) Stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K'nın etkileri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1), 59-67.
- Yang, J., Kloepper, J.W. and Ryu, C.M., 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in Plant Science*, 14(1), 1-4.
- Yaşar, F., Ellialtıoğlu, Ş., Özpay, T. Ve Uzal, Ö., 2008. Tuz stresinin karpuzda (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) antioksidatif enzim (SOD, CAT, APX ve GR) aktivitesi üzerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi (J. Agric. Sci.)*, 18 (1), 61-65.
- Yazıcı, İ., Türkan, İ., Sekmen, A.H. and Demiral, T., 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, 6, 49-57.
- Ye, Y., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S. And Lu, C. Y., 2003. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 49, 209-221.
- Yıldırım, E., Turan, M. and Dönmez, M. F., 2008. Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. *Roumanian Society of Biological Sciences*, 13 (5), 3933-3943.
- Yıldızıtugay, E., 2011. Endemik *Centaurea tuzgoluensis* Aytaç & H. Duman ve *Centaurea lycaonica* Boiss. & Heldr.'nın fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine tuz stresinin etkileri. Doktora tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Yıldızıtugay, E., Konakçı, C. Ö. and Küçüköğüt, M., 2013. *Sphaerophysa kotschyana*, an endemic species from Central Anatolia: antioxidant system responses under salt stress. *J. Plant Res.*, 126, 729-742.
- Yıldızıtugay, E., Konakçı, C. Ö. and Küçükök, M., 2014. Exogenous nitric oxide (as sodium nitroprusside) ameliorates polyethylene glycol-induced osmotic stress in hydroponically grown maize roots. *J Plant Growth Regul*, 33, 683-696.
- Yılmaz, E., Tuna, A. L. ve Bürün, B., 2011. Bitkilerin tuz stresi etkilerine karşı geliştirdikleri tolerans stratejileri. *C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1), 47-66.
- Yılmaz, Y., 2015. Bitkiler: Stres Fizyolojisi. <http://yavuzyilmazbiz.blogspot.com.tr/2015/07/bitkiler-stres-fizyolojisi-hem-dogal.html> (12.10.2015)

- Yordanova, R. Y., Christov, K. N. and Popova, L. P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environmental and Experimental Botany*, 51, 93-101.
- Zahir, Z. A., Ghani, U., Naveed, M., Nadeem, S. M., Asghar, H. N., 2009. Comparative effectiveness of *Pseudomonas* and *Serratia* sp. containing ACC-deaminase for improving growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt-stressed conditions. *Arch Microbiol*, 191, 415-424.
- Zahir, Z. A., Akhtar, S. S., Ahmad, M., Saifullah and Nadeem, S. M., 2012. Comparative effectiveness of *Enterobacter aerogenes* and *Pseudomonas fluorescens* for mitigating the depressing effect of brackish water on maize. *International Journal of Agriculture & Biology*, 14 (3), 337-344.
- Zarea, M. J., Hajinia, S., Karimi, N., Goltapeh, E. M., Rejali, F. and Varma, A., 2012. Effect of Piriformospora indica and Azospirillum strains from saline or non-saline soil on mitigation of the effects of NaCl. *Soil Biology & Biochemistry*, 45, 139-146.
- Zarmehri, S. G., Moosavi, S. G., Zabihi, H. R. and Seghateslami, M. J., 2013. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and zinc fertilizer on forage yield of maize under water deficit stress conditions. *Tech. J. Engin & App. Sci.*, 3 (23), 3281-3290.
- Zehnder, G. W., Yao, C., Murphy, J. F., Sikora, E. R. and Kloepper, J. W., 2000. Induction of resistance in tomato against cucumber mosaic cucumovirus by plant growth-promoting rhizobacteria. *BioControl*, 45, 127-137.
- Zhang, L., Hao, J., Bao, M., Hasi, A. and Niu, Y., 2015. Cloning and characterization of a $\text{Ca}^{+2}/\text{H}^{+}$ exchanger from the halophyte *Salicornia europaea* L.. *Plant Physiology and Biochemistry*, 96, 321-328.
- Zhang, M., Kong, X., Xu, X., Li, C., Tian, H. and Ding, Z., 2015. comparative transcriptome profiling of the maize primary, crown and seminal root in response to salinity stress. *Plos One*, 10 (3), 1-16.
- Zhao, M. G., Chen, L., Zhang, L. L., Zhang, W. H., 2009. Nitric reductase-dependent nitric oxide production is involved in cold acclimation and freezing tolerance in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 151, 755-767.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Kars'ta doğdu. İlköğrenimini Ankara, orta ve lise öğrenimini Kars'ta tamamladı. 1998 yılında girmiş olduğu Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2002 yılında mezun oldu. 2002-2003 yılları arasında askerlik hizmetini tamamladıktan sonra 2003-2004 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü'nden tezsiz yüksek lisan derecesi olarak mezun oldu. 2004-2008 yılları arasında özel öğretim kurumlarında öğretmenlik yaptıktan sonra 2009 yılında Gümüşhane Üniversitesi Şiran Mustafa Beyaz MYO'da öğretim görevlisi olarak işe başladı ve halen bu kurumda bölüm başkanı olarak görev yapmaktadır. Aynı yılda başlamış olduğu doktora eğitimine devam etmektedir. Ayrıca evli ve 2 çocuk babasıdır.