



## Diyarbakır İlinde Yetişen Badem Ağaçlarından Endofit ve Epifit Bakteri Türlerinin İzolasyonu ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Karakterizasyonu

Zekiye Ceren AKTAN<sup>1</sup>, Soner SOYLU<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Diyarbakır Ziraî Mücadele Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 21110 Sur- DİYARBAKIR, <sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 31034 Antakya-HATAY

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-1031-8314>, <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>

✉: [soylu@mku.edu.tr](mailto:soylu@mku.edu.tr)

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı, sağlıklı badem ağaçlarından izole edilen bitki gelişimini teşvik eden endofit ve epifit bakteri (PGPB) türlerin tanımlanması ve bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarının belirlemektir. MALDI-TOF tanımlama analizleri sonucu, 19 izolat Gram-negatif *Serratia*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* ve *Enterobacter*, 26 izolat ise Gram-pozitif *Bacillus* ve *Arthrobacter* cinsine dahil türler olarak teşhis edilmiştir. Test edilen izolatlardan, 46 izolat siderofor, 45 izolat amonyak üretiminde pozitif, 35 izolat ise fosforu değişen oranlarda çözebilme yeteneğinde olurken, bakterilerin tamamı 5.48-127.81 µg/ml konsantrasyon aralığında IAA üretmişlerdir. *Pseudomonas* spp and *Enterobacter cloacae* izolatları siderofor, *Serratia marcescens* izolatları fosforu çözme, *Enterobacter cloacae* izolatları IAA üretme, *Bacillus* spp ise amonyak üretme etkinliğinin yüksek düzeylerde olduğu görülmüştür. Aynı türe bağlı endofit bakteri izolatları epifit bakteri izolatlarına kıyasla bu mekanizmaları daha düşük düzeyde teşvik ettiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar yüksek düzeyde siderofor, amonyak, IAA üretimi ile fosfor çözme gibi bitki gelişimini teşvik edici özellikleri sahip PGPB izolatlarının ekonomik öneme sahip kültür bitkilerin yetiştiriciliğinde biyolojik gübre olarak kullanılmada potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

### Araştırma Makalesi

#### Makale Tarihi

Geliş Tarihi : 09.10.2019

Kabul Tarihi : 06.02.2020

#### Anahtar Kelimeler

Badem  
Biyolojik Mücadele  
Bitki Gelişimini Teşvik Eden  
Bakteri (PGPB)  
Biyogübre

## Prevalence and Characterization of Plant Growth Promoting Mechanisms of Endophytic and Epiphytic Bacterial Species Isolated from Almond Trees Growing in Diyarbakır Province of Turkey

### ABSTRACT

The aims of this study were to identify endophytic and epiphytic plant growth promoting bacteria (PGPB) from healthy almond trees and to characterize plant growth promoting mechanisms. By using MALDI-TOF analyses, 19 Gram-negative isolates, belonging to *Serratia*, *Pseudomonas*, *Ochrobactrum* and *Enterobacter* genus and 26 Gram-positive isolates, belonging to *Bacillus* and *Arthrobacter* genus were identified. Among the tested bacterial isolates, 46 isolates were positive for siderophore production, 45 isolates for ammonium production, 35 isolates solubilized phosphorus varying ratios, and all isolates produced IAA between 5.48-127.81 µg/ml concentrations. Isolates of *Pseudomonas* spp and *Enterobacter cloacae* were found highly effective for siderophore production, *S. marcescens* for solubilisation of phosphorus, *E. cloacae* for IAA production, *Bacillus* spp for ammonia production. Bacterial isolates tested showed significant differences in siderophore, ammonia and IAA production and phosphorus solubilisation efficiency. It was found that the efficacies of endophytic bacterial isolates were lower compared to the same species of epiphytic bacterial isolates. Overall results suggest that use of the most efficient PGPB isolates have an excellent potential to be used as biofertilizer for cultivation of economically important crops.

### Research Article

#### Article History

Received : 09.10.2019

Accepted : 06.02.2020

#### Keywords

Almond  
Biological control  
Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB)  
Bio-fertiliser

**To Cite** : Aktan ZC, Soylu S 2020. Diyarbakır İlinde Yetişen Badem Ağaçlarından Endofit ve Epifit Bakteri Türlerinin İzolasyonu ve Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalarının Karakterizasyonu. KSÜ Tarım ve Doğa Derg 23 (3): 641-654. DOI: 10.18016/ksutarimdoga.vi.659802

## GİRİŞ

Dünya kabuklu meyve üretiminde önemli bir yeri olan badem (*Prunus dulcis* L.) yetiştiriciliği Türkiye'de de giderek yaygınlaşmaktadır. Dünya genelinde 2017 yılında 1.925.887 Ha alanda toplam 2.239.697 ton badem üretimi yapılmıştır. Dünya'da badem üretiminde Türkiye 34.050 ha alanda 90.000 ton üretim miktarı ile ABD, İspanya, Fas, ve İran'dan sonra 5. sırada yer almıştır (Anonymous, 2017). Başlangıçta sadece Ege, Akdeniz ve Doğu Anadolu bölgeleri ile sınırlı kalan badem yetiştiriciliği, son yıllarda diğer bölgelerde de yeni bahçelerin tesis edilmesi sonucunda Türkiye'deki ekim alanları genişlemiştir. Güç şartlara adaptasyon yeteneğinin olması ve pazardaki yüksek talep, badem yetiştiriciliğini cazip hale getirmektedir. Son yıllarda, özellikle GAP (Güneydoğu Anadolu Projesi) bölgesinde badem fidanlıklarının arttığı gözlenmektedir.

Badem verimi ve kalitesi kuraklık, don, dolu, tuzluluk gibi abiyotik faktörlerin yanı sıra hastalık, zararlı ve yabancı otlar gibi biyotik faktörler tarafından oldukça etkilenir. Ürün verimi ve kalitesinin artırılmasında yoğun azot, fosfor ve potasyum içerikli fenni gübreleme programı kullanılırken, ekonomik olarak ciddi kayıplara neden olan hastalık, zararlı ve yabancı otların mücadelesinde yaygın olarak fungusit, insektisit ve herbisit gibi pestisitler kullanılmaktadır. Son yıllarda tüketicinin bilinçlenmesi ve tarım alanlarında kullanılan yoğun pestisit uygulamalarının çevreyi ve doğal dengeyi tehdit etmesi, gelişmiş ülkelerde pestisit uygulamalarına sınır getirilmesi gibi nedenler bilim insanlarını bitki gelişimini teşvik eden, hastalıklarla mücadelede etkili, çevre dostu, yenilenebilir yeni stratejilerinin araştırılma gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bitkilerde hastalıklarla alternatif mücadele yollarından biride hastalık etmenlere karşı yararlı biyolojik mücadele ajanı (BCA) veya bitki gelişimini teşvik eden (PGB) mikroorganizmaların (=fungus, bakteriyel, viral mikroorganizmalara verilen genel ad) kullanılmasıdır. Doğada bitki köklerin etrafında, kompost topraklarında, farklı bitki organlarının üzerinde veya dokuların içerisinde doğal olarak yaşayan, bitkilerde hastalık oluşturmeyen mikroorganizmaların değişik formülasyon ve uygulama şekillerinde kullanıldığı bitkilerde gelişmeyi teşvik ettiği gibi hastalıklar tarafından neden olunan zararı en düşük düzeye indirmede önemli katkı sağlıyorlar (Tjamos ve ark., 2010; Wang ve ark., 2010; Nega, 2014).

Biyolojik mücadelede ve bitki gelişimini teşvik eden yararlı bakteriyel mikroorganizmalar (BCA ve PGPB) bitkide buldukları yere göre **endofit** ve **epifit** olmak üzere iki şekilde isimlendirilirler. Endofitik bakteriler

yüzey dezenfeksiyonu yapılmış bitki dokularının iç dokularından izole edilen, uygulama yapıldığı bitkilere herhangi bir zarar vermeyen bakteriler olarak tanımlanır (Santoyo ve ark., 2016; Sülü ve ark., 2016). Epifitik bakteriler doğrudan bitki yüzeyinden veya bitkinin toprak altı organların hemen yanındaki topraklardan ve kök yüzeylerinden izole edilen, endofitik bakterilerde olduğu gibi uygulama yapıldığı bitkilere herhangi bir zarar vermeyen yararlı bakteriler olarak tanımlanır (Hallmann ve ark., 1997; Ahemad ve Kibret, 2014). Gerek epifit gerekse endofit orijinli BCA ve PGPB izolatları bitki gelişimini teşvik etmede ve hastalıklarının gelişimi engellemede doğrudan veya dolaylı olmak suretiyle iki şekilde etkide bulunur (Arora ve ark., 2012; Bhardwaj ve ark., 2014; Saranraj ve ark., 2013; Gupta ve ark., 2015; Soylu ve ark., 2020). Epifit ve endofit karakterdeki BCA ve PGPB izolatlar, bitki gelişimini "doğrudan" teşvik etmede azot fiksasyonu, çözünemeyen veya bitkinin alabileceği formlarda olmayan bitki besin maddelerinin bitkinin alabileceği formlara dönüştürmesi (minerilazasyonu), siderofor ve amonyak (NH<sub>3</sub>) üretimi, karbon kaynağı açısından rekabet ve bitkisel hormonların (IAA, oksin, sitokin, etilen, giberellik asit vb.) teşvik edilmesi gibi mekanizmaları kullanırlar. PGPB için "doğrudan" etki olarak kabul edilen bu mekanizmalar, antagonist bakteriler için "dolaylı" engelleme mekanizmaları olarak kabul edilir. PGPB türleri farklı konukçu-patojen ilişkilerinin irdelendiği çalışmalarda bakteri türleri tarafından üretilen hidrojen siyanür (HCN), amonyak (NH<sub>3</sub>), uçucu antimikrobiyal etkili bileşikler, hidrolitik enzimler (glukanaz, kitinaz, proteaz vb) gibi bileşiklerin üretilmelerinin yanı sıra, bitkilerde hastalık etmenlerine karşı dayanaklılığın teşvik edilmesi dolaylı engelleme mekanizmaları olarak bildirilmiştir (Lugtenberg ve Kamilova, 2009; Tariq ve ark., 2014; Leong, 1986; Fravel, 1988; Weller, 1988; Wei ve ark., 1996; Saranraj ve ark., 2013; Santoyo ve ark., 2016). Bu tür mekanizmalardan bir veya birkaçına sahip olan mikroorganizmaların hastalıklarla mücadelede "biyolojik preparat" ve/veya bitki gelişimini teşvik etmede ise "biyolojik gübre" olarak preparatları geliştirilerek pazara sunulmaktadır. Biyolojik preparat geliştirmenin en önemli adımlarından biri biyolojik mücadele etmeni mikroorganizmaların (mikroorganizmaların) doğadan izolasyonu ve bunların bitki gelişimini teşvik etmede rol oynayan olası bazı mekanizmalarının araştırılmasıdır.

Yapılan bu çalışmada, Diyarbakır ilinin önemli badem yetiştiriciliği yapılan alanlarındaki sağlıklı badem bitkilerin kök, kök boğazı ve gövdelerin yüzey ve içsel dokularından elde edilen farklı türlere ait endofitik ve

epifitik bakteri izolatlarının (i) izolasyonu, (ii) teşhisi, (iii) bitki gelişimini teşvik eden olası bazı etki mekanizmaları *in vitro* koşullarda araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

### Bakteriyel İzolatların İzolasyonu

Çalışmalarda kullanılan epifitik ve endofitik bakteri izolatları Diyarbakır ili genelinde badem yetiştiriciliği yapılan bahçelerdeki sağlıklı badem fidan, ağaç ve çöğürlerinin kök, kökboğazı ve gövdelerinden elde edilmiştir.

Epifit bakterilerin izolasyonu; ayrı ayrı kodlanmış sağlıklı bitki kökleri ıslak çamur olmayan topraktan alındıktan sonra, kök boğazı ve gövde parçacıkları 1-2 cm boyunda kesildikten sonra dezenfeksiyon amaçlı herhangi bir ön yıkama işlemine tabi tutulmadan doğrudan steril 0.05 mM MgCl<sub>2</sub> tampon çözeltisi içine konulmuş ve 30 dk. 200 rpm ortibal çalkalayıcı içerisinde çalkalamaya bırakılmıştır. Daha sonra buradan alınan süspansiyonlar seri olarak sulandırıldıktan sonra yarı seçici King's B Agar (KB), ve genel besi yerlerinden Nutrient Agar (NA) ve Trypic Soybean Agar (TSA) besi yerlerine bagetle yayılmıştır. Diğer yandan sağlıklı bitkilerin kök ve gövdeleri herhangi bir yıkama yapılmadan doğrudan besi yerleri üzerine ekimler yapılarak epifit bakteri izolatları elde edilmiştir.

Endofit bakterilerin izolasyonu; araziden alınan bitki örnekleri (kök, kök boğazı ve gövdelerden alınan dokular) ayrı ayrı kodlandıktan sonra, ilk aşamada akan temiz çeşme suyu altında iyice yıkanmış ve ardından 3 dk. %70'lik etil alkolde, 2 dk. %2'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda bekletildikten sonra tekrar %70'lik etil alkole daldırılmıştır. Alkol ile muamele edilmiş örneklerden alkolü uzaklaştırmak için örnekler 5 kez steril su ile yıkanarak yüzey dezenfeksiyonu aşaması tamamlanmıştır. Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış kök, kök boğazı ve gövdelerden alınan örnekler daha sonra steril 0.05 mM MgCl<sub>2</sub> tampon çözeltisi içinde steril havan içerisinde iyice ezildikten sonra 5 dk. beklenmiştir. Daha sonra buradan alınan süspansiyon seri olarak sulandırıldıktan sonra KB ve NA besi yerlerine bagetle yayılmıştır. Yüzey dezenfeksiyonunun etkili olduğunu kontrol etmek amacı ile dokuların ezilmeden önce kullanılan son yıkama suyundan 100 µl alınarak NA besi yerine steril baget ile yayılmıştır.

Her iki yöntemlerle elde edilen petri kapları 26 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılarak bakteri gelişimi kontrol edilmiştir. Farklı seçici ve genel besi yerlerinde gelişen bitki örneğini/ağacı/bölgeyi/ temsil edecek sayıda morfolojik olarak birbirinden farklı görülen bakteri kolonileri daha sonra teşhis ve çalışmalarda kullanılmak üzere uygun besi yerleri üzerinde saflaştırılmıştır.

Her bir izolat, rutin çalışmalar için uygun besi yeri içeren petri kabında (6 cm) veya eğik Agarda +4 °C de kısa süreli veya steril %40 lık steril Gliserol içeren Cryo Eppendorf tüpler içerisinde -80 °C de saklanmıştır.

### Tütünde Aşırı Duyarlılık (HR= Hypersensitive Reaction) ve Patates Yumuşak Çürüklük Testi

Elde edilen tüm aday epifit ve endofit bakterileri bitki patojeni olup olmadığını belirlemek amacı ile tütün bitkisinde aşırı duyarlılık (HR) testine tabi tutulmuştur. NA besiyerinde 24-48 saat geliştirilen aday bakteri izolatları ve Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezinden sağlanan ve tanılaması yapılmış bitki patojeni izolat (*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Psp 12 izolatı) kültürlerinin steril 0.05 mM MgCl<sub>2</sub> tampon çözeltisi içinde 10<sup>8</sup> hücre/ml yoğunluğunda hazırlanan süspansiyonları steril bir enjektör yardımıyla genç tütün (*Nicotiana tobaccum*) yaprağının (8 haftalık) damar aralarına alt yüzeyinden enjekte edilmiştir. İnokulasyon her bakteri izolatı bir damar arasına gelecek şekilde ve izolatlar arasında bir damar boşluk bırakılmak suretiyle yapılmıştır. İnokulasyondan 24-48 saat sonra inokule edilen alanlarda oluşan nekrotik görünüm pozitif (test edilen izolatın bitki patojeni olduğunu gösterir) olarak kabul edilmiştir (Lelliot ve Stead, 1987).

Tütünde HR oluşturmeyen aday bakteri izolatları daha sonra patates dilimi üzerinde yumuşak çürüklük testine tabi tutulmuştur. %3'lük NaOCl'de 1 dakika bekletilerek dezenfekte edilmiş patatesler, kabukları soyulduktan sonra steril bistürü ile ortadan ikiye kesilmiş, daha sonra tekrar steril bir bistürü ile 1 cm eninde dilimlenmiştir. Dilimler daha sonra steril ıslak filtre kâğıdı içeren steril petriler içine patates dilimleri yerleştirilmiştir. Bir öze dolusu alınan HR negatif bakteri izolatları patates dilimleri üzerine bulaştırılmıştır. Bulaştırılmış dilimlerin yer aldığı petriler 26 °C 2 günlük inkübasyona bırakılmış, daha sonra inokulasyon noktasında çürümelerin varlığı yönünden değerlendirme yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987). Kontrol olarak Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Kültür Koleksiyon Merkezinden sağlanan ve *Pectobacterium caratovororum* subsp. *caratovororum* olarak tanımlanmış izolat kullanılmıştır. HR ve patates yumru çürüklük testinde negatif sonuç veren izolatların insan patojeni olup olmadıklarının belirlenmesi amacıyla petriler 37 °C 2 günlük inkübasyona bırakılmış, daha sonra izolatlar gelişme gösterip göstermeme yönünden değerlendirme yapılmıştır (Lelliot ve Stead, 1987). Gelişme göstermeyen izolatlar çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiştir.

### Bakteri İzolatlarının Tanılanması

Tütünde HR ve patates yumuşak çürüklük testlerinin her ikisinde de negatif sonuç veren izolatların ön seçimleri için biyokimyasal (koloni rengi, koloni formu, hücre morfolojisi, gram reaksiyonu, oksidaz ve katalaz üretimi, levan oluşumu) testler yapılmıştır (Lelliott ve Stead, 1987). Biyokimyasal testlerde benzerlik gösteren izolatlardan gerekli ön seçimler yapıldıktan sonra kalan tüm izolatların kesin tür teşhisleri MALDI-TOF MS (Microflex LT; Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) ile yapılmıştır (Pavlovic ve ark., 2012; Kara ve ark., 2017a). Saf kültürden alınan ve TSA (Tryptic Soy Agar) besi yeri üzerinde 24-36 saat gelişen saf bakteri kolonisinden etanol-formik asit yöntemi ile ekstrakte edildikten sonra, her örnek noktası üzerine 1 µl HCCA Matrix ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) solüsyonu eklenmiş ve kuruması sağlanmıştır. Daha sonra örnekler Flex Control Software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) yazılımı ile izolatların spektrumları analiz edilmiş ve Mikroorganizma kütüphanesi (BIOTYPER™ 1.1 software (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Germany) ile eşleştirilmek suretiyle türlerin teşhisleri yapılmıştır.

### Bakteri İzolatlarının Bitki Gelişimini Teşvik Etme Mekanizmalarının Belirlenmesi

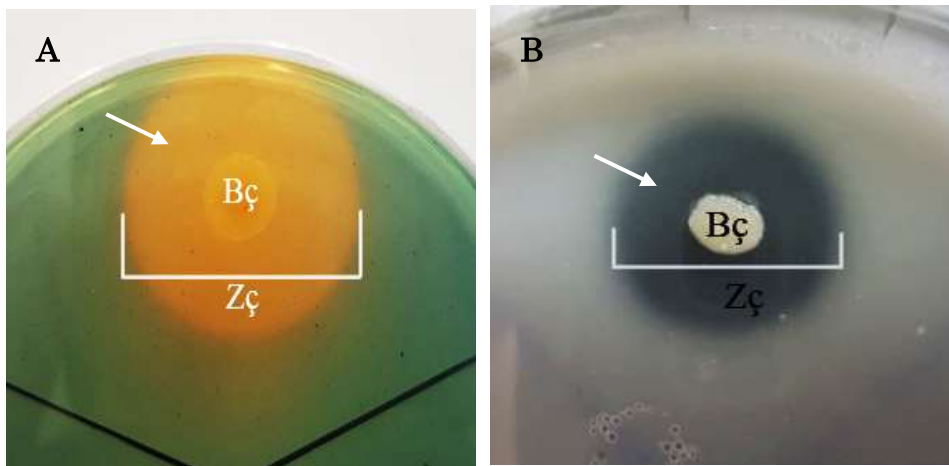
#### Bakteri İzolatlarının Siderofor Oluşturma Potansiyellerinin Belirlenmesi

Siderofor üretimi Schwyn ve Neilands (1987) tarafınca bildirilen krom azurol S (CAS) boyası içeren mavi renkli Agar besi yerleri kullanılarak belirlenmiştir. Test edilecek olan bakteri izolatların 2 günlük taze kültüründen steril kürdan ile alınan inokulum, CAS Agar ortamı üzerine nokta inokülasyonları ve petriler

26 °C'de 5 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 2 gün sonra bakteri kolonisi etrafında gelişen sarı-turuncu renkte bir engelleme bölgesi (zon), siderofor üretimi için pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 1A). Bakteri kolonisi etrafında oluşan zon çapını bakteri koloni çapına bölmek suretiyle her izolat için siderofor çözünürlük indeksi (S-indeksi) değerleri hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000). Her bakteri izolatu için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılmış, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Psp12 izolatu da denemelere pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

#### Bakteri İzolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının fosforu çözme etkinliği, tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri içeren petrilerde belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2012). Test edilecek olan bakteri izolatların 2 günlük taze kültüründen steril kürdan ile alınan bakteri inokulumu, PVK Agar ortamı üzerine nokta inokülasyonları yapılmış ve petriler 26 °C'de 7 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnokulasyondan 7 gün sonra bakteri kolonisi etrafında gelişen şeffaf zon (engelleme bölgesi), fosfor çözme etkinliği için pozitif olarak kabul edilmiştir (Şekil 1B). Bakteri kolonisi etrafında oluşan zon çapının bakteri koloni çapına bölmek suretiyle her izolat için fosfor çözünürlük indeksi (F-indeksi) değerleri hesaplanmıştır (Vazquez ve ark., 2000). Her bakteri izolatu için ölçümler 3 farklı petri kabında yapılmış, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Psp12 izolatu da denemelere pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.



Şekil 1. Epifit ve endofit bakterilerin (A) siderofor üretme ve (B) fosforu çözme özelliklerinin (ok) belirlenmesi. Siderofor ve fosfor çözme indeks değerleri engelleme zon çapının (Zç) bakteri koloni çapına (Bç) oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Figure 1. Determination of siderophore production (A) and phosphate solubilisation (B) by epiphytic and endophytic bacterial isolates. Siderophore and phosphate solubilisation indices were calculated by proportioning the inhibition zone diameter (Zç) to the bacterial colony diameter (Bç).

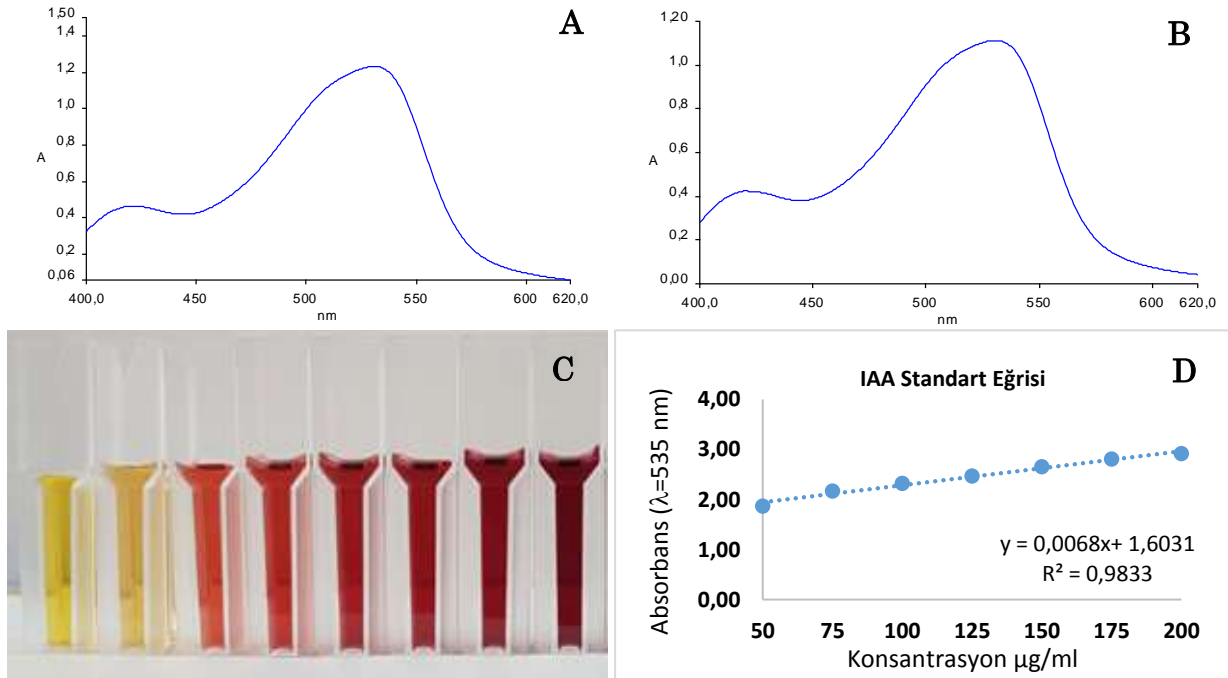
### Bakteri İzolatlarının İndol Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının IAA üretme potansiyelleri Salkowski yöntemi kullanılmak suretiyle belirlenmiştir (Glickman ve Dessaux, 1995). Bakteri izolatının 2 günlük taze kültürlerinden hazırlanan  $10^8$  hücre/ml konsantrasyondaki bakteri süspansiyondan 500 µl alınarak içerisinde L-tryptophan (3 mg/ml) içeren 5 ml steril LB besi yeri konulmuştur. L-tryptophan içermeyen besi yeri kontrol uygulama olarak değerlendirilmiştir. İzole edildikleri bölge, bitki kısmı, izole edildiği yer (epifit-endofit) ve bakteri türlerini temsil edecek şekilde seçilmiş bakteri izolatları ile bulaştırılmış sıvı besi yeri içeren tüpler 30 °C'de 200 rpm'e ayarlı inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besi yerinde gelişen bakteriler 5000 rpm'de 30 dk. santrifüj yapıldıktan sonra üstte kalan supernatant'dan 1 ml alınarak steril eppendorf tüplere aktarılmış ve üzerlerine 2 damla (yaklaşık 40 µl) fosforik asit ilave edilmiştir. Hazırlanan bu karışımın tamamı daha sonra içerisinde 4 ml Salkowski çözeltisi (150 ml %98'lik  $H_2SO_4$ , 250 ml distile  $H_2O$ , 7.5 ml of 0.5 M  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ) bulunan steril cam tüplere aktarılmış ve 25 °C'de karanlık ortamda 30 dk. inkübasyona bırakılmıştır. IAA üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan kırmızı-pembe rengе dönüşmesiyle belirginleşmiştir (Şekil 2C).

Oluşan IAA miktarı 535 nm dalga boyuna ayarlı UV-vis spektrofotometre (Perkin Elmer, Lamda 25, USA) kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir (Patten ve Glick, 2002). Elde edilen absorbans değerleri bilinen IAA (Merck, Darmstadt, Germany) çözeltisi ile hazırlanan IAA konsantrasyon standart eğrisiyle karşılaştırılmak suretiyle gerçek değerlere (ppm (=µg/ml) düzeyinde) dönüştürülmüştür (Şekil 2D). Bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* Psp12 izolatı da denemelere pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

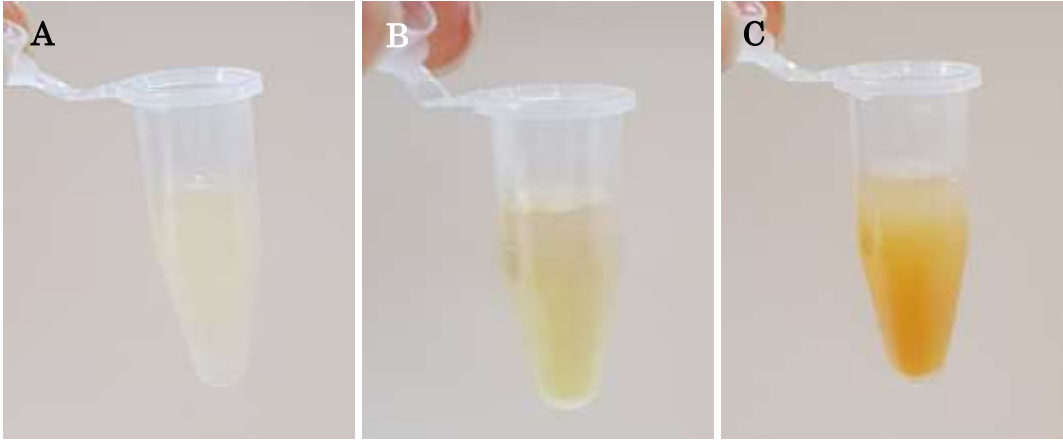
### Bakteri İzolatlarının Amonyak ( $NH_3$ ) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının amonyak ( $NH_3$ ) oluşturma potansiyelleri Nessler's çözeltisi ile belirlenmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992). Test edilecek olan bakteri izolatların 2 günlük taze kültüründen steril kürdan ile alınan bakteri inokulumu, içerisinde steril 5 ml peptonlu su içeren cam tüplere aşılanmıştır. Bakteri ile bulaştırılmış tüpler 26 °C'de 150 rpm'e ayarlı inkübatörlü orbital çalkalayıcıda 4 gün inkübasyona bırakılmıştır. Sıvı besi yerinde gelişen bakteriler üzerlerine 250 µl Nessler's çözeltisi ilave edilmiştir. Besi yeri içerisinde bakterilerce oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan kahverengi-koyu sarı rengе dönüşmesiyle belirginleşmiştir (Şekil 3).



Şekil 2. Bakteriye izolatlar tarafından besi yerinde IAA oluşturulması. (A) Saf IAA spektrumu, (B) Bakteri tarafından üretilen IAA spektrumu, (C) Farklı konsantrasyonlardan elde edilen ve IAA miktarının belirlenmesinde kullanılan IAA standartlarının renk değişimi, (D) farklı konsantrasyonların spektrum değerlerinden elde edilen IAA standart eğrisi ve regresyon denklemi

Figure 2. Production of IAA in nutrient media by bacterial isolates. (A) Typical spectra of pure IAA, (B) spectra of IAA produced by bacterial isolate, (C) colour of different concentration of pure IAA used for calibration, (D) Calibration curve and regression formula of standard IAA



Şekil 3. Bakteriye izolatlar tarafından besi yerinde amonyak oluşturulması. (A) Kontrol, (B) Amonyak üretmeyen bakteri, (C) Amonyak üreten bakteri

Figure 3. Production of ammonia in nutrient media by bacterial isolates. (A) Control, (B) bacterial isolate which fail to produce ammonia, (C) Production of ammonia by bacterial isolate

### Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Tüm *in vitro* denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, her bakteri izolatu için ölçümler 3 farklı petri kabında/besi yerinde yapılmış, deneme 2 farklı zamanda tekrar edilmiştir. Elde edilen verilere SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizi yapılmış ve izolatlar arasındaki farklılık Tukey HSD Testi ile tespit edilmiştir ( $P \leq 0.05$ ).

### BULGULAR ve TARTIŞMA

#### Sağlıklı Ağaçlardan Epifitik ve Endofit Bakterilerin İzolasyonu ve Tanınması

Sağlıklı badem ağaçlarının toprak altı (kök, kök boğazı ve köklere yakın topraklardan) ve toprak üstü (kök boğazına yakın gövde) aksamlarından bölgeyi, konukçu bitki kısmı ve izole edildiği petriyi temsil edecek şekilde farklı morfolojik görünümü 9 adeti AEN (Almond ENdofit) olarak kodlanan endofit (%9.27), 88 adeti ise AEP (Almond EPifit) olarak kodlanan epifit (%90.73) olmak üzere toplam 97 bakteri izolatu elde edilmiştir. Bu izolatlar bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalarını belirleme testlerine alınmadan önce bitki patojeni olup olmadığını belirlemek amacıyla tütün yapraklarında HR ve patates dilimlerinde yumuşak çürüklük testlerine tabi tutulmuş ve her iki testte negatif sonuç veren 62 izolatın MALDI-TOF analiz yöntemi ile tanınması yapılmıştır. Yapılan MALDI-TOF analizleri sonucu toplam 58 izolat tür düzeyinde belirlenmiştir. Tür düzeyinde teşhisi yapılan 58 izolat arasında yer alan ve *Staphylococcus* spp, *Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp, *Bordetella petrii* olarak teşhis edilen 12 adet farklı türlere ait izolatların literatürlerde insan patojeni olması nedeni ile denemelerden çıkartılmış ve geri kalan 46 izolat türleri ile çalışılmaya karar verilmiştir.

Tür düzeyinde teşhisi yapılan ve denemelerde

kullanılan 46 izolata ait tanılama sonuçları Çizelge 1 de sunulmuştur. En fazla sıklıkta elde edilen bakteriler 26 adet ile farklı *Bacillus* cinsine bağlı türler olduğu bunu sırası ile 8 izolatla *Serratia*, 5 izolatla *Ochrobactrum*, 4 izolatla *Pseudomonas*, 2 izolatla *Enterobacter* ve 1 izolatla *Arthrobacter* cinsleri takip etmiştir.

Çizelge 1'de görüldüğü gibi tür düzeyinde teşhisi yapılan 46 izolatın 19 adeti Gram-negatif (toplam izolatın %41.3), 27 adeti ise Gram-pozitif (toplam izolatın %48.7) bakteri türleri olarak belirlenmiştir. Elde edilen izolatlardan 26 izolat farklı *Bacillus* spp. ait olup, en fazla elde edilen türlerin 8'er izolat ile *Bacillus subtilis* ssp *subtilis*, *Bacillus mojavensis* ve *Serratia marcescens* olduğu, bu türleri sırayla 3'er izolatla, *Bacillus vallismortis*, *Bacillus megaterium*, *Ochrobactrum antropi*, 2'şer izolatla *Bacillus cereus*, 1'er izolat ile *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pumilis*, *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens*, *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas monteilii*, *Pseudomonas chlororaphis* ssp *aurantiaca*, *Ochrobactrum intermedium*, *Ochrobactrum tritici* izolatları izlemiştir. Söz konusu 46 izolat arasında endofit olarak izole edilen 6 farklı tür arasında, 5 türün (*Serratia marcescens*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus vallismortis* ve *Bacillus megaterium*) hem epifit hemde endofit izolatları olduğu, *Bacillus pumilis* ise epifit olarak elde edilen türler arasında bulunmadığı görülmektedir. Endofit bakteri izolatlarının bulunduğu cinsler aynı zamanda rizosferde epifit olarak bulunan bakteri izolatların yer aldığı cinslerdir. Bu nedenle endofit bakterilerin bir şekilde rizosfer kökenli bakterilerin alt populasyon grubu olabileceği değerlendirilmektedir (Marquez-Santacruz ve ark., 2010). Doğada yer alan sağlıklı bitkilerin kök ve toprak bölgesi (rizosfer), toprak üstüaksamları (filosfer) ve doku içleri (endosphere) Proteobacteria, Firmicutes ve Actinobakteri şubesine

Çizelge 1. Sağlıklı badem ağaçlarının farklı kısımlarından elde edilen endofit (**AEN**) ve epifit (**AEP**) antagonist bakteri izolatların MALDI-TOF analizleri ile tanılanması

Table 1. Identification of endophytic (**AEN**) and epiphytic (**AEP**) bacterial isolates obtained from different parts of healthy almond trees by MALDI-TOF analysis

İzolat Adı	MALDI-TOF Benzerlik İndex	Gram Reak.	İEBK
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AEP1	2.13	-	G
<i>Bacillus cereus</i> AEP2	2.11	+	K
<i>Bacillus subtilis subtilis</i> AEP3	2.02	+	K
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP4	2.10	+	G
<i>Serratia marcescens</i> AEP5	2.38	-	K
<i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>subtilis</i> AEP11	2.05	+	K
<i>Bacillus mojavensis</i> <b>AEN13</b>	2.11	+	G
<i>Ochrobactrum tritici</i> AEP14	2.09	-	K
<i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>dissolvens</i> AEP15	2.41	-	G
<i>Bacillus cereus</i> AEP16	2.07	+	G
<i>Bacillus subtilis</i> AEP18	2.07	+	K
<i>Serratia marcescens</i> AEP19	2.22	-	K
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP20	2.33	+	G
<i>Serratia marcescens</i> <b>AEN22</b>	2.33	-	K
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP24	2.33	+	G
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP26	1.96	+	K
<i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>cloacae</i> <b>AEN27</b>	2.23	-	K
<i>Bacillus subtilis</i> AEP28	1.97	+	K
<i>Bacillus pumilus</i> <b>AEN29</b>	2.24	+	K
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP31	2.35	-	G
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP32	2.03	+	K
<i>Bacillus megaterium</i> AEP33	2.27	+	K
<i>Bacillus thuringiensis</i> AEP34	2.04	+	K
<i>Serratia marcescens</i> <b>AEN38</b>	2.31	-	K
<i>Pseudomonas putida</i> AEP57	2.33	-	G
<i>Serratia marcescens</i> AEP59	2.37	-	G
<i>Serratia marcescens</i> AEP60	2.41	-	K
<i>Serratia marcescens</i> AEP66	2.40	-	K
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP67	2.38	-	G
<i>Bacillus megaterium</i> <b>AEN72</b>	2.26	+	G
<i>Bacillus megaterium</i> AEP75	2.34	+	G
<i>Arthrobacter oxydans</i> AEP81	2.10	+	G
<i>Bacillus vallismortis</i> AEP82	2.03	+	K
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP84	2.50	-	K
<i>Serratia marcescens</i> AEP85	2.39	-	K
<i>Bacillus subtilis</i> AEP91	2.06	+	K
<i>Pseudomonas monteilii</i> AEP93	2.19	-	G
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP95	2.07	+	K
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP109	2.13	+	K
<i>Bacillus vallismortis</i> <b>AEN110</b>	2.0	+	G
<i>Bacillus subtilis</i> AEP112	2.09	+	G
<i>Bacillus vallismortis</i> AEP113	1.92	+	K
<i>Bacillus subtilis subtilis</i> AEP116	1.95	+	K
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> ssp <i>aurantiaca</i> AEP119	2.34	-	G
<i>Ochrobactrum intermedium</i> AEP127	2.18	-	G
<i>Bacillus subtilis</i> ssp <i>subtilis</i> AEP138	2.10	+	K

İEBK (İzole Edildiği Bitki Kısım): G, gövde; K, kök-kökboğazi

ait pek çok faydalı PGPB türlerine konukçuluk yapmakta olup, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Serratia*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Ochrobactrum* ve *Microbacterium* cinsine dahil endofit ve epifit bakteri PGPB türleri en fazla sıklıkla rapor edilmiş türler olarak bildirilmiştir (Hallmann ve ark., 1997; Sturz ve ark., 2000; Rosenblueth ve Martínez-Romero, 2006; Marquez-Santacruz ve ark., 2010; Romero ve ark., 2014; Shi ve ark., 2014; Kara ve ark., 2017b).

### **Bakteri İzolatlarının Bitki Gelişimini Teşvik Etmede Kullandıkları Mekanizmaların Belirlenmesi**

Endofit ve epifit bakteri izolatların siderofor üretimi ve fosforu çözme etkinlikleri bu testlere özel besi yerleri üzerinde oluşturulan engelleme zonlarına göre, amonyak (NH<sub>3</sub>) üretimi özel besi yerinde oluşturulan renk değişimi şiddetine göre kalitatif olarak, indol asetik asit (IAA) üretimi ise yine özel sıvı besi yerinde oluşturulan miktarın spektrofotometrik ölçümlerine göre kantitatif olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir.

Siderofor üretimi CAS Agar besi yeri kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 4A). Bakteri kolonisi etrafında oluşturulan engelleme bölgesi bakterilerin ürettiği hydroxamate-tip siderofor'dan dolayı indikatör boya olan krom azurol ün indirgenerek besi yeri renginin maviden sarı-turuncu renge dönüşmesine neden olmuştur (Şekil 4A). Elde edilen sonuçlar Çizelge 2 de verilmiştir. Çizelge 2'de görülebileceği gibi test edilen izolatların tamamı CAS Agar besi yerinde değişen oranlarda siderofor üretmiştir. Test edilen tüm izolatlar arasında en fazla siderofor üretimi 3.37, 3.18, 2.81 çözünürlük indeks değerleri ile sırası ile *Pseudomonas monteilii* AEP93, *Pseudomonas putida* AEP57 ve *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens* AEP15 izolatları tarafından oluşturulmuştur. *Bacillus* spp. arasında özellikle *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* izolatların yanısıra *Serratia marcescens* izolatlarında yüksek düzeyde siderofor ürettiği belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 4A). İzolatlar arasında *Ochrobactrum intermedium*, *Ochrobactrum anthropi*, *Arthrobacter oxydans*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus pumilis* ve *Bacillus megaterium* izolatları diğer izolatlara nispeten daha düşük düzeyde siderofor oluşturmuştur (Şekil 4A). PGPB tarafından üretilen siderofor'lar bitki gelişimi üzerine doğrudan veya dolaylı yönde etkide bulunur. *Aeromonas*, *Azadirachta*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Serratia* ve *Streptomyces* sp. ait PGPB türlerince üretilen sideroforun topraktaki bağlı demiri çözerek bitkiye yararlı hale çevirip, bitkinin bundan faydalanması sonucu gelişiminin doğrudan teşvik ettiği önceden yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Sujatha ve Ammani, 2013; Duman ve Soylu, 2019).

### **Bakteri izolatlarının Fosfor Çözme Potansiyellerinin Belirlenmesi**

Aday bakteri izolatlarının fosfor çözme etkinliği, tri kalsiyum fosfat içeren Pikovskaya Agar (PVK) besi yeri içeren petrilerde belirlenmiştir. Bakteri kolonisi etrafında bakterilerin ürettiği enzimler sonucu tri kalsiyum fosforun çözülmesiyle şeffaf bir zon olmuştur (Şekil 4B). Çizelge 2'de de görüldüğü gibi test edilen tüm izolatlar arasında bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseoli*'nin yanısıra antagonist izolatlardan *Bacillus cereus* AEP2, AEP16, *Bacillus subtilis* ssp. *subtilis* AEP11, *Ochrobactrum anthropi* AEP31, AEP67, AEP84, *Bacillus thuringiensis* AEP34, *Bacillus vallismortis* AEP82, *Arthrobacter oxydans* AEP81, *Pseudomonas chlororaphis* ssp *aurantiaca* AEP119 ve *Ochrobactrum intermedium* AEP127 izolatları besi yerinde fosforu çözme aktivitesi göstermemiştir (Çizelge 2). Test edilen tüm izolatlar arasında en fazla fosfor çözen izolatlar 3.78 ve 3.73 çözünürlük indeks değerleri ile Gram negatif *Serratia marcescens* AEP59 ve AEP60 izolatları olmuştur (Şekil 4B). Bu izolatları sırasıyla 2.89 ve 2.78 çözünürlük indeks değerleri sırasıyla *Serratia marcescens* AEP5 ve *Pseudomonas aeruginosa* AEP1 ve izolatları izlemiştir. Aynı türe ait bakteri izolatları tarafından üretilen fosfor çözünürlük indeks değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir (Çizelge 2).

### **Bakteri İzolatlarının İndole Asetik Asit (IAA) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi**

Aday bakteri izolatlarının LB sıvı besi yerinde ürettiği IAA miktarı inokulasyondan 4 gün sonra standart IAA absorbans değerlerine kıyaslanmak suretiyle ppm (=µg/ml) düzeyinde belirlenmiştir (Şekil 2C,D). IAA değerlerinin ölçülmesinde zaman önemli olması nedeni ile 46 izolatın iş yükü göz önüne alındığında, bakterilerin izole edildikleri bölge, konukçusu, bitki örneği (epifit-endofit) ve türleri temsil edecek şekilde seçilmiş 28 farklı bakteri izolatı kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 2 de verilmiştir.

Çizelge 2 de de görülebileceği gibi test edilen tüm izolatların bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseoli* dahil tamamı 5.48-127.81 µg/ml konsantrasyonları aralığında IAA üretmiştir. İzolatların geneli değerlendirildiğinde genelde Gram negatif bakteri türlerinin (*Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens*, *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae*, *Ochrobactrum* spp, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas putida*) gram pozitif türlere kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda IAA ürettiği belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 5).

Çizelge 2 incelendiğinde aynı türe ait bakteri izolatları tarafından üretilen IAA konsantrasyon değerleri arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir. İzolatlar arasında en yüksek IAA üreten



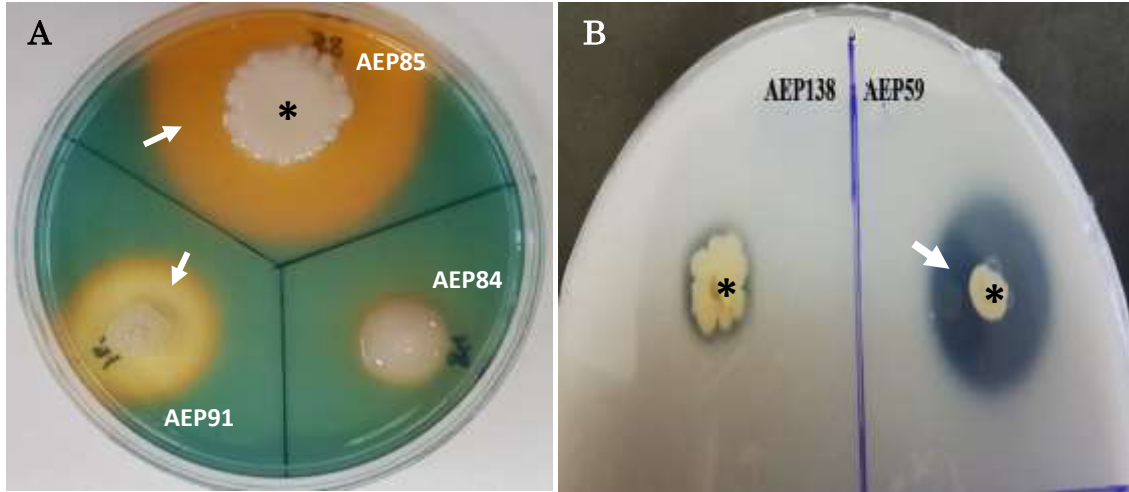
Çizelge 2. Farklı endofit ve epifit bakteri izolatların bitki gelişimini teşvik eden mekanizmaları üretme potansiyelleri<sup>a</sup>.

Table 2. Potential of different plant growth mechanisms by different endophytic and epiphytic bacterial isolates

Bakteri İzolatları	Bitki Gelişimini Teşvik Eden Mekanizmalar			
	S-indeks	F-indeks	NH <sub>3</sub>	IAA
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> Psp 12	1.28 <sup>a-e</sup>	0.00 <sup>a</sup>	-	7.72 <sup>b</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> AEP1	1.68 <sup>f-l</sup>	<b>2.78<sup>f</sup></b>	-	8.61 <sup>c-f</sup>
<i>Bacillus cereus</i> AEP2	1.91 <sup>i-o</sup>	0.00 <sup>a</sup>	+	10.34 <sup>gh</sup>
<i>Bacillus subtilis subtilis</i> AEP3	1.79 <sup>h-m</sup>	1.24 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP4	1.60 <sup>e-j</sup>	1.11 <sup>b</sup>	++	16.96 <sup>j</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEP5	2.17 <sup>n-p</sup>	<b>2.89<sup>f</sup></b>	++	nt
<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i> AEP11	1.54 <sup>d-i</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	7.93 <sup>b</sup>
<i>Bacillus mojavensis</i> AEN13	1.69 <sup>f-m</sup>	1.16 <sup>b</sup>	++	nt
<i>Ochrobactrum tritici</i> AEP14	1.73 <sup>h-m</sup>	1.94 <sup>de</sup>	++	69.32 <sup>p</sup>
<i>Enterobacter cloacae ssp dissolvens</i> AEP15	<b>2.81<sup>s</sup></b>	1.45 <sup>bc</sup>	++	127.81 <sup>v</sup>
<i>Bacillus cereus</i> AEP16	1.59 <sup>e-j</sup>	0.00 <sup>a</sup>	+	14.45 <sup>i</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> AEP18	1.69 <sup>f-m</sup>	1.18 <sup>b</sup>	++	5.48 <sup>a</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEP19	2.21 <sup>op</sup>	2.01 <sup>de</sup>	+	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP20	1.14 <sup>ab</sup>	1.22 <sup>b</sup>	++	9.12 <sup>f</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEN22	1.85 <sup>i-o</sup>	2.18 <sup>e</sup>	+	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP24	1.02 <sup>a</sup>	1.11 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP26	1.33 <sup>a-f</sup>	1.14 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Enterobacter cloacae ssp cloacae</i> AEN27	2.67 <sup>rs</sup>	1.36 <sup>bc</sup>	++	112.49 <sup>u</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> AEP28	1.53 <sup>c-i</sup>	1.23 <sup>b</sup>	+	10.57 <sup>h</sup>
<i>Bacillus pumilus</i> AEN29	1.15 <sup>ab</sup>	1.13 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP31	1.16 <sup>ab</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP32	2.38 <sup>pr</sup>	1.35 <sup>bc</sup>	+	9.02 <sup>f</sup>
<i>Bacillus megaterium</i> AEP33	1.06 <sup>a</sup>	1.22 <sup>b</sup>	+	27.15 <sup>k</sup>
<i>Bacillus thuringiensis</i> AEP34	1.23 <sup>a-e</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	37.85 <sup>n</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEN38	2.04 <sup>l-p</sup>	2.19 <sup>e</sup>	++	30.47 <sup>l</sup>
<i>Pseudomonas putida</i> AEP57	<b>3.18<sup>t</sup></b>	1.35 <sup>bc</sup>	++	33.21 <sup>m</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEP59	1.87 <sup>i-o</sup>	<b>3.73<sup>g</sup></b>	++	nt
<i>Serratia marcescens</i> AEP60	2.05 <sup>m-p</sup>	<b>3.78<sup>g</sup></b>	++	nt
<i>Serratia marcescens</i> AEP66	2.00 <sup>k-o</sup>	1.96 <sup>de</sup>	++	57.81 <sup>o</sup>
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP67	1.18 <sup>a-d</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	nt
<i>Bacillus megaterium</i> AEN72	1.08 <sup>ab</sup>	1.10 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Bacillus megaterium</i> AEP75	1.07 <sup>a</sup>	1.27 <sup>b</sup>	+	nt
<i>Arthrobacter oxydans</i> AEP81	1.28 <sup>a-e</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	90.34 <sup>t</sup>
<i>Bacillus vallismortis</i> AEP82	1.44 <sup>b-h</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	nt
<i>Ochrobactrum anthropi</i> AEP84	1.14 <sup>ab</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	84.02 <sup>r</sup>
<i>Serratia marcescens</i> AEP85	1.78 <sup>h-m</sup>	2.19 <sup>e</sup>	+++	nt
<i>Bacillus subtilis</i> AEP91	1.82 <sup>i-n</sup>	1.10 <sup>b</sup>	++	8.06 <sup>bc</sup>
<i>Pseudomonas monteilii</i> AEP93	<b>3.37<sup>t</sup></b>	1.67 <sup>cd</sup>	+++	10.38 <sup>gh</sup>
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP95	1.82 <sup>i-n</sup>	1.18 <sup>b</sup>	++	nt
<i>Bacillus mojavensis</i> AEP109	1.52 <sup>c-i</sup>	1.26 <sup>b</sup>	++	8.30 <sup>b-e</sup>
<i>Bacillus vallismortis</i> AEN110	1.17 <sup>a-c</sup>	1.14 <sup>b</sup>	++	8.90 <sup>ef</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> AEP112	1.65 <sup>f-k</sup>	1.17 <sup>b</sup>	++	5.86 <sup>a</sup>
<i>Bacillus vallismortis</i> AEP113	1.35 <sup>a-g</sup>	1.19 <sup>b</sup>	+	8.81 <sup>d-f</sup>
<i>Bacillus subtilis subtilis</i> AEP116	1.45 <sup>b-h</sup>	1.16 <sup>b</sup>	+++	14.46 <sup>i</sup>
<i>Pseudomonas chlororaphis ssp aurantiaca</i> AEP119	1.71 <sup>g-m</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	8.26 <sup>b-d</sup>
<i>Ochrobactrum intermedium</i> AEP127	1.11 <sup>ab</sup>	0.00 <sup>a</sup>	++	86.18 <sup>s</sup>
<i>Bacillus subtilis ssp subtilis</i> AEP138	2.01 <sup>k-o</sup>	1.24 <sup>b</sup>	+++	9.81 <sup>g</sup>

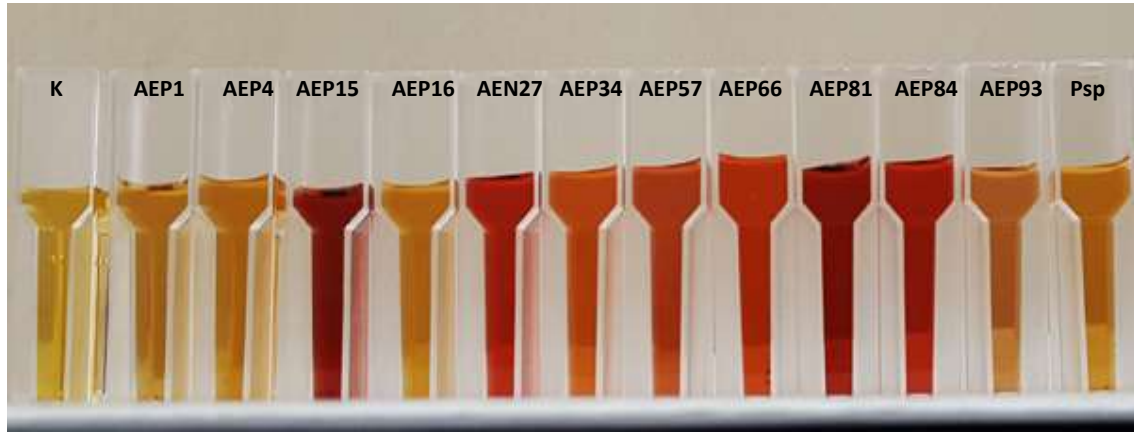
S-indeks ve F-indeks: Siderofor ve Fosfor çözünürlük indeks değerleri; NH<sub>3</sub>: Amonyak; -, renk değişimi olmadığını, +, ++, +++ ise amonyak konsantrasyonunun artışına paralel renk değişim şiddetindeki artışı gösterir. Çözünürlük index değerleri bakteri tarafından oluşturulan engelleme zon çapının bakteri koloni çapına oranlanması ile hesaplanmıştır.

Aynı sütun içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD Testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05). **nt**: benzer izolatlar olması sebebi ile tekrar test edilmedi



Şekil 4 Farklı bakteri izolatlarının (\*) CAS besi yerinde siderofor üretme (A) ve Pikovskaya Agar (PVK) besi yerinde (B) fosforu çözme potansiyellerinin (ok) belirlenmesi

Figure 4. Determination of the (A) siderophore production on CAS Agar media and (B) phosphate solubilisation potentials (arrow) of different bacterial isolates (\*) on Pikovskaya (PVK) Agar media



Şekil 5. Farklı bakteri izolatlarının L-tryptophan içeren besi yerinde IAA üretme potansiyellerinin belirlenmesi. Besi yerinin sarı renkten kırmızı renge değişimi ortamda IAA üretimini gösterir

Figure 5. Determination of IAA production potentials by different bacterial isolates in L-tryptophan containing nutrient media. Colour changes from yellow to red colour indicate IAA production in nutrient media

ilk 3 bakteri izolatu, 127.81 µg/ml ile Gram negatif epifit *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens* AEP15, 112.49 µg/ml ile bir diğer yakın tür Gram negatif endofit *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae* AEN27 ve 90.34 µg/ml Gram pozitif Epifit *Arthrobacter oxydans* AEP81 izolatları olduğu belirlenmiştir (Şekil 5). *Bacillus* spp. arasında en yüksek konsantrasyonda IAA üreten ilk 5 bakteri izolatu ise 37.85 µg/ml ile *Bacillus thuringiensis* AEP34, 27.15 µg/ml ile *Bacillus megaterium* AEP 33 ve 16.96 µg/ml ile *Bacillus mojavensis* AEP 4, 14.46 µg/ml ile *Bacillus subtilis subtilis* AEP 116 ve *Bacillus cereus* AEP 81 izolatları olduğu belirlenmiştir. İzolatlar arasında en düşük IAA üretimi 5.48 µg/ml ile *Bacillus subtilis subtilis* AEP18 izolatında gözlenmiştir. Bu izolat tarafından üretilen IAA miktarı bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* tarafından üretilen IAA miktarından da düşük düzeyde olduğu görülmektedir.

Çalışmalarda en fazla IAA üreten *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens* AEP15 izolatının L-tryptophan içeren ve içermeyen besi yerinde oluşturduğu IAA miktarı araştırıldığında, inokulasyondan 3 gün sonra L-tryptophan içermeyen besi yerinde oluşturduğu IAA miktarı 29.76 µg/ml iken, L-tryptophan içeren besi yerinde oluşturulan IAA konsantrasyonunun 109.09 µg/ml düzeyinde olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3, Şekil 6).

Bu durum L-tryptophan'ın antagonist bakteriler tarafından üretilen IAA'in biyosentezinin başlatıcısı (precursor) olduğunu kanıtlamıştır. L-tryptophan içeren ve içermeyen besi yerinde bakterilerin IAA oluşturabildiği önceden yapılmış çalışmalarda da bildirilmiştir (Singh ve ark., 2008; Mehta ve ark., 2010). Yapılan önceki çalışmalarda *Enterobacter cloacae* ssp *cloacae* ve *Enterobacter cloacae* ssp *dissolvens* izolatları tıbbi bitkilerden izole edilmiş ve

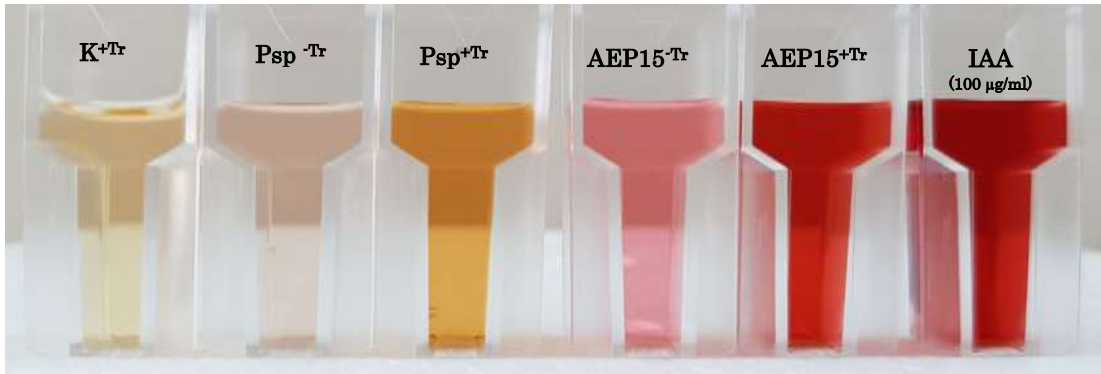
PGPR özelliklerini belirlemeye yönelik çalışmalarda, izolatların oldukça önemli düzeyde IAA üretmelerinin yanısıra fungal hastalık etmeni *Macrophomina*

*phaseolina*'nın misel gelişimini engelleme yapmak suretiyle antagonistik etkide bulunduğu bildirilmiştir (Rani ve Reddy, 2011; Ullah ve ark., 2017).

Çizelge 3. Bakteri izolatlarınca besi yerinde IAA üretimi üzerine L- tryptophan'ın etkisi  
*Table 3. Effect of L-tryptophan on IAA production by bacterial isolates in nutrient media*

Uygulama	IAA (µg/ml)
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> Psp 12 (L- tryptophan'sız)	0,92 <sup>a</sup>
<i>P. syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i> Psp 12+ L- tryptophan	7,37 <sup>b</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>cloacae</i> AEP15 (L-tryptophan'sız)	29,76 <sup>c</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i> ssp <i>cloacae</i> AEP15+ L-tryptophan	109,09 <sup>d</sup>

Sütun içinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD Testine göre önemli olduğunu gösterir (P<0.05).



Şekil 6. Bakteri izolatlarınca besi yerinde IAA üretimi üzerine L- tryptophan'ın etkisi.

*Figure 7. Effect of L-tryptophan on IAA production by bacterial isolates in nutrient media*

### Bakteri İzolatlarının Amonyak (NH<sub>3</sub>) Üretme Potansiyellerinin Belirlenmesi

Aday bakteri izolatlarının uçucu bileşiklerden amonyak (NH<sub>3</sub>) oluşturma potansiyelleri peptonlu su içerisinde gelişen bakteri süspansiyonu üzerine Nessler's çözeltisi eklenmek suretiyle belirlenmiştir (Cappuccino ve Sherman, 1992). Besi yeri içerisinde bakterilerce oluşturulan amonyak üretimi tüplerdeki besi yeri renginin açık sarıdan kahverengi-koyu sarı renge dönüşmesiyle belirginleşmiştir (Şekil 2). Yapılan testlemelerde bakterilerin tüplerde oluşturduğu renk değişim şiddeti; -, renk değişimi olmadığını, +, ++, +++ ise amonyak konsantrasyonunun artışına paralel renk değişim şiddetindeki artışı göstermiştir. Deneme

sonucunda test edilen 46 izolatın yanısıra kontrol olarak bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* yer almıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelgede de görüleceği gibi, izolatlar arasında AEP85, AEP93, AEP116, AEP138 izolatları yüksek düzeyde amonyak üretimi sonucunda daha şiddetle renk değişikliklerine neden olurken, *Pseudomonas aeruginosa* ve bitki patojeni *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* herhangi bir renk değişikliğine neden olmamıştır. Bu izolatlar dışında tüm izolatlar besi yerinde değişen miktarda amonyak ürettiği belirlenmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Farklı bakteri izolatlarının sıvı besi yerinde amonyak üretme potansiyellerinin belirlenmesi.

*Figure 7. Determination of potentials of different bacterial isolates on ammonia production in nutrient broth.*

Çalışmalarımızda izole edilen bakterilerin bitki gelişimini teşvik eden (siderofor, IAA ve amonyak üretimi, fosforu çözme etkinliği) etki mekanizmaları incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bitki gelişimini teşvik etkinliğinin daha çok epifitik kökenli bakteriler tarafından etkili bir şekilde gösterildiği, aynı türe bağlı bitki içsel dokulardan elde edilen endofit bakteri izolatların etkinliğinin epifit bakteri izolatlarına kıyasla düşük düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde aynı türe ait bakteri izolatları arasında PGP aktiviteleri arasındaki farklılıklar gözlenmiştir. Bu durumun bakteri izolatların izole edildikleri yer (epifitik veya endofitik oluşu) ve buldukları ortamdaki çevre koşullarının (yetiştigi ortamlardaki bitki besin madde içeriği ve hastalık etmenlerinin bulunuş durumu gibi) izolatların genetik çeşitliliğine etkide bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer durum önceden yapılmış farklı konukçu-patojen ilişkilerin irdelendiği birçok çalışmada da bildirilmiştir (Loper ve Schroth 1986; Krebs ve ark., 1993; Bernal ve ark., 2002; Araujo ve ark., 2005; Soylu ve ark., 2018; Duman ve Soylu, 2019).

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Sağlıklı badem ağaçlarından izole edilen endofit ve epifit bakterilerce oluşturulan bitki gelişimini teşvik eden mekanizmalar birlikte değerlendirildiğinde, genelde *Enterobacter cloacae* izolatların yüksek düzeyde IAA ve siderofor oluşturma yeteneğinde olduğu, *Serratia marcescens* izolatlarının siderofor ve fosfatı çözme etkinliklerinin yüksek düzeylerde seyrettiği, *Bacillus* spp ise daha çok antagonistik etkinlikte rol oynayan amonyak üretme etkinliğinin yüksek düzeylerde gerçekleştiği belirlenmiştir. Söz konusu izolatların bitki gelişimini teşvik etmelerinin yanısıra farklı bitki fungal hastalıklara karşı biyo-etkinlikleri ve etki mekanizmalarının araştırılmasına yönelik çalışmalar büyük önem arz etmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından finansal olarak desteklenmiştir (Proje Numarası: MKU BAP-16444).

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

## KAYNAKÇA

- Ahemad M, Kibret M 2014. Mechanisms and Applications of Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Current Perspective. Journal of King Saud University-Science, 26: 1-20.
- Anonymous, 2017. FAOSTAT, World Production Quantities of Crops <http://www.fao.org> (Erişim tarihi: 16.12.2019).
- Araujo FF, Henning AA, Hungria M 2005. Phytohormones and Antibiotics Produced by *Bacillus subtilis* and Their Effects on Seed Pathogenic Fungi and on Soybean Root Development. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(8-9): 1639-1645.
- Arora NK, Tewari S, Singh S, Lal N, Maheshwari DK 2012. PGPR for Protection of Plant Health Under Saline Conditions. In: Maheshwari DK (ed.) Bacteria in Agrobiolgy: Stress management, pp. 239-258.
- Bernal G, Illanes A, Ciampi L 2002. Isolation and Partial Purification of a Metabolite from a Mutant Strain of *Bacillus* sp. with Antibiotic Activity Against Plant Pathogenic Agents. Electronic Journal of Biotechnology, (on line), 15 April 2002, 5 (1). Available from <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol5/issue1/full/4/>
- Bhardwaj D, Ansari MW, Sahoo RK, Tuteja N 2014. Biofertilizers Function as Key Player in Sustainable Agriculture by Improving Soil Fertility, Plant Tolerance and Crop Productivity. Microb Cell Fact, 13: 66.
- Cappuccino JC, Sherman N 1992. In Microbiology: A laboratory Manual, Third ed. Benjamin Cummings Pub. Co, New York, pp. 125-179.
- Duman K, Soylu S 2019. Characterization of Plant Growth-Promoting Traits and Antagonistic Potentials of Endophytic Bacteria from Bean Plants Against *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Bitki Koruma Bülteni, 59 (3) : 59-69.
- Fravel DR 1988. Role of Antibiosis in the Biocontrol of Plant Disease. Annual Review of Phytopathology, 26: 75-91.
- Glickman E, Dessaux Y 1995. A Critical Evaluation of the Specificity of Salkowski Reagent for Indole Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 61: 793-796.
- Gupta G, Parihar SS, Ahirwar NK, Snehi SK, Singh V 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. Journal of Microbial and Biochemical Technology, 7: 096-102.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Klopper JW 1997. Bacterial Endophytes in Agricultural Crops. Canadian Journal of Microbiology, 43(10): 895-914.
- Kara M, Uysal A, Sönmez E, Soylu EM, Kurt Ş, Soylu,

- S 2017a. Employment of MALDI-TOF Mass Spectrometry for identification of antagonist and plant growth promoting bacterial isolates. 3rd International Symposium for Agriculture and Food – ISAF 2017, 18-20 October 2017, Ohrid/Republic of Macedonia. p. 338.
- Kara M, Atay M, Kaya A, Soyly EM, Kurt Ş, Soyly S 2017b. Biocontrol potential and mode of action of *Serratia marcescens* against soil-borne fungal pathogens of cypress trees. 3rd International Symposium for Agriculture and Food – ISAF 2017, 18-20 October 2017, Ohrid/Republic of Macedonia. p.339.
- Kumar P, Dubey RC, Maheshwari DK 2012. *Bacillus strains* Isolated from Rhizosphere Showed Plant Growth Promoting and Antagonistic Activity against Phytopathogens. *Microbiological Research*, 167: 493–499.
- Krebs B, Junge H, Ockhardt A, Hoding B, Heubner D, Erben, U 1993. *Bacillus subtilis*: An effective Biocontrol Agent. *Pesticide Science*, 37: 427-429.
- Lelliot RA, Stead DE 1987. Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. (T.F. Preece, Editor). In: *Methods in Plant Pathology*, Vol 2, Blackwell Scientific Publications. pp. 176-177, Oxford.
- Leong J 1986. Siderophores: Their Biochemistry and Possible Role in the Biocontrol of Plant Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 24: 187-209.
- Loper JE, Schroth MN 1986. Influence of Bacterial Sources of Indole-3-Acetic Acid on Root Elongation of Sugar Beet. *Phytopathology*, 76(4): 386–389.
- Lugtenberg B, Kamilova F 2009. Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology* 63: 541-556.
- Marquez-Santacruz HA, Hernandez-Leon R, Orozco-Mosqueda MC, Velazquez-Sepulveda I, Santoyo G 2010. Diversity of Bacterial Endophytes in Roots of Mexican Husk Tomato Plants (*Physalis ixocarpa*) and Their Detection in the Rhizosphere. *Genetics and Molecular Research*, 9(4): 2372-2380.
- Mehta PS, Negi KS, Ojha SN 2010. Native Plant Genetic Resources and Traditional Foods of Uttarakhand Himalaya for Sustainable Food Security and Livelihood. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 1 (1): 89–96.
- Nega A 2014. Review on Concepts in Biological Control of Plant Pathogens. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(27): 33-54.
- Patten CL, Glick BR 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indole Acetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(8): 3795-3801.
- Pavlovic M, Konrad R, Iwobi AN, Sing A, Busch U, Huber I 2012. A Dual Approach Employing MALDI-TOF MS and Real-Time PCR for Fast Species Identification Within the *Enterobacter cloacae* Complex. *FEMS Microbiology Letters*, 328: 46–53.
- Rani MU, Reddy G 2011. *Bacillus cereus* and *Enterobacter cancerogenus* Screened for Their Efficient Plant Growth Promoting Traits Rhizobacteria (PGPR) and Antagonistic Traits Among Sixteen Bacterial Isolates from Rhizospheric Soils of Pigeon Pea. *African Journal of Microbiology Research*, 5(15): 2090-2094.
- Romero FM, Marina M, Pieckenstain FL 2014. The Communities of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Leaf Endophytic Bacteria, Analyzed by 16S-ribosomal RNA Gene Pyrosequencing. *FEMS Microbiology Letters*, 351(2): 187-194.
- Rosenbluet M, Martinez-Romero E 2006. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19: 827–837.
- Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Carmen Orozco-Mosqueda M, Glick BR 2016. Plant Growth-Promoting Bacterial Endophytes. *Microbiological Research*, 183: 92–99.
- Saranraj P, Sivasakthivelan P, Sakthi SS 2013. Prevalence and Production of Plant Growth Promoting Substance by *Pseudomonas fluorescens* Isolated from Paddy Rhizosphere Soil of Cuddalore District, Tamil Nadu, India, *African Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(2): 95-101.
- Schwyn B, Neilands JB 1987. Universal Chemical Assay for Detection and Determination of Siderophores. *Analytical Biochemistry*, 160: 47-56.
- Shi Y, Yang H, Zhang T, Sun J, Lou K 2014. Illumina-Based Analysis of Endophytic Bacterial Diversity and Space-Time Dynamics in Sugar Beet on The North Slope of Tianshan Mountain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(14): 6375-6385.
- Singh N, Pandey P, Dubey RC, Maheshwari DK 2008. Biological Control of Root Rot Fungus *Macrophomina phaseolina* and Growth Enhancement of *Pinus roxburghii* (Sarg.) by Rhizosphere Competent *Bacillus subtilis* BN1. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24: 1669-1679
- Soyly S, Kara M, Üremiş İ, Kurt Ş, Soyly EM, Uysal A 2018. Determination of Plant Growth Promoting Traits of Bacterial Endophytes Isolated and Identified from Invasive Plant Water Hyacinth *Eichhornia crassipes* in Orontes River of Turkey. 1. *International Mediterranean Symposium*, 01-03 November 2018, Mersin/Turkey. Volume 4: 65-78.
- Soyly EM, Soyly S, Kara M, Kurt Ş 2020. Sebzelelerde Sorun Olan Önemli Bitki Fungal Hastalık Etmenlerine Karşı Vermikomposttan İzole Edilen Mikrobiyomların *in vitro* Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23 (1): 7-18.
- Sturz AV, Christie BR, Nowak J 2000. Bacterial Endophytes: Potential Role in Developing Sustainable Systems Of Crop Production. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(1): 1-30.
- Sujatha N, Ammani K 2013. Siderophore Production

- by the Isolates of Fluorescent *Pseudomonads*. International Journal of Current Research and Review, 5(20): 01-07.
- Sülü SM, Bozkurt İA, Soylu S 2016. Bitki Büyüme Düzenleyici ve Biyolojik Mücadele Etmeni Olarak Bakteriyel Endofitler. Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21: 103-111.
- Tariq M, Hameed S, Yasmeen T, Zahid M 2014. Molecular Characterization and Identification of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria Isolated from the Root Nodules of Pea (*Pisum sativum* L.). World Journal of Microbiology and Biotechnology, 30: 719-725.
- Tjamos EC, Tjamos SE, Antoniou PP 2010. Biological Management of Plant Diseases: Highlights on Research and Application. Journal of Plant Pathology, 92: S17-S21.
- Ullah A, Mushtaq H, Fahad S, Shah A, Chaudhary HJ 2017. Plant Growth Promoting Potential of Bacterial Endophytes in Novel Association with *Olea ferruginea* and *Withania coagulans*. Microbiology, 86(1): 119-127.
- Vazquez P, Holguin G, Puente ME, Lopez-Cortes A, Bashan Y, 2000. Phosphate-Solubilizing Microorganisms Associated with The Rhizosphere of Mangroves in a Semiarid Coastal Lagoon. Biology and Fertility of Soils, 30: 460-468.
- Wang Y, Zeng Q, Zhang Z 2010. Antagonistic Bioactivity of an Endophytic Bacterium H6. African Journal of Biotechnology, 9(37): 6140-6145.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S 1996. Induced Systemic Resistance to Cucumber Diseases and Increased Plant Growth by Plant-Growth Promoting Rhizobacteria Under Field Conditions. Phytopathology, 86: 221-224.
- Weller DM 1988. Biological Control of Soil Borne Plant Pathogens In The Rhizosphere with Bacteria. Annual Review of Phytopathology, 26: 379-407.