

**BİTKİ GELİŞİMİNİ TESPİK EDİCİ BAKTERİLERİN ÇAY GELİŞME, VERİM,
BESİN ALIMI VE ENZİM AKTİVİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ ***

Ramazan ÇAKMAKCI¹, Yasar ERTURK², Mesude Figen DONMEZ³, Metin TURAN⁴,
Ali ATASEVER⁵, Remzi SEKBAN⁶, Meral KUTLU¹, Ayhan HAZNEDAR⁶

1Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum

2Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Yozgat

3Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Erzurum

4Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü, Erzurum

5Ataturk Üniversitesi İspir Hamza Polat MYO İspir- Erzurum

6Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Ataturk Çay ve Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü, Rize

Sorumlu yazar: rcakmak@atauni.edu.tr

ÖZET

Bu araştırma Doğu Karadeniz Bölgesi çay rizosferi topraklarından izole edilerek tanısı, karakterizasyonu, azot fiksasyonu, fosfat çözme, aminosiklopropan karboksilat deaminaze (ACCD) aktivitesi ve bitki geliştirme gibi özellikleri belirlenerek çay yetistirciliğinde biyolojik gübre olarak kullanılacak bakterilerin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. İzolasyonda azotsuz katı malat-sukroz ve genel besi yeri; izolatların fosfat çözme özelliklerinin belirlenmesinde ise sıvı NBRIP-BPB besi yeri kullanılmıştır. Benzerlik İndeksi, ACCD aktivitesi, azot fiksasyon ve fosfat çözucülük özelliği yüksek olarak seçilen 11 izolat mineral azot ve NPK gübrelemesi ve kontrole kıyasla test edilmiştir. Bakteri etkinliği asılanan strain, ele alınan parametreler ve hasat tarihlerine göre değişmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, özellikle *Bacillus subtilis* 6/3, *Bacillus megaterium* 21/3, *Pseudomonas fluorescens* 4/9 ve 48/3, *Bacillus pumilus* 16/8, *Paenibacillus polymyxa* 14/3, *Paenibacillus macquariensis* 69/6 ve *Stenotrophomonas maltophilia* 63/5 izolatları Fener 3 klonunda enzim aktivitesi, gövde ve yaprak verimi dahil gelişmeyi teşvik etmiştir. Ayrıca PGPR aşılması ile çay yapraklarının makro ve mikro element içeriği artmış ve enzim aktivitesi değişmiştir. Bu bakterilerden yüksek etkinlik gösterenler çay gelişmesini ve yaprak verimini denemede kullanılan mineral gübrelemeye eşit veya daha fazla artırabilmiştir. Bu bakterilerin organik yetistircilikte kullanılacağı, bitkinin strese toleransını artırabileceği, stres koşullarında çay bitkisinin büyüme ve gelişmesini olumlu etkileyebileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bitki gelişimini teşvik edici rizobakteri, izolasyon, azot fiksasyonu, fosfat çözucülüğü, enzim aktivitesi, makro ve mikro element alımı, *Camellia sinensis*.

* Bu araştırma 107 O 360 Nolu Proje ile TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir.

**The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Tea Growth, Yield, Nutrient Uptake,
and Enzyme Activities**

ABSTRACT

This study was conducted to isolate and identify plant growth promoting bacteria (PGPR) as biofertilizers from the rhizosphere of tea (*Camellia sinensis* L.) grown in the eastern Black Sea region and to evaluate their potential use for nitrogen fixation, phosphate solubilisation, ACC deaminase activity and improving plant growth of tea. A nitrogen-free solid malate-sucrose and nonselective

tryptic soy agar medium was used to isolate N₂-fixing bacteria. We selected eleven different potential PGPR from a pool on the basis of their SIM values, high ACCD activity, N₂-fixing and P-solubilizing ability. The experiment also included applications of mineral nitrogen, and NPK-fertilizer as well as a control treatment without inoculation and fertilizer application. Bacterial efficiency were variable and depended on the inoculants strain, harvest time and growth parameters evaluated. Trial results show that inoculation with newly N₂-fixing and P-solubilizing bacterial strain *Bacillus subtilis* 6/3, *Bacillus megaterium* 21/3 *Pseudomonas fluorescens* 4/9 and 48/3, *Bacillus pumilus* 16/8, *Paenibacillus polymyxa* 14/3, *Paenibacillus macquariensis* 69/6 and *Stenotrophomonas maltophilia* 63/5 stimulated overall plant growth, including enzyme activity, shoot development and leaf yield of Turkish registered tea clone Fener 3. In addition, with PGPR inoculation, macro and micro element content of tea leaves increased, enzyme activity also changed. Of the effective bacteria tested consistently gave growth and yields of tea equal to or higher than chemical fertilizers applied. The bacteria used in organic farming, increase plant stress tolerance, stress conditions, plant growth and development of tea was concluded that positive affect.

Key Words: Plant growth promoting rhizobacteria, isolation, nitrogen fixation, phosphate solubilization, enzyme activity, macro and micro element content, *Camellia sinensis*

GİRİŞ

Basta azot olmak üzere kimyasal gübrelerin çevreye zararlı etkilerindeki artışlar, çevresel sürdürülebilirlik, düşük üretim maliyeti, sağlık ve daha iyi bir verim beklentisi biyolojik gübre kullanımına olan ilgiyi artırmıştır. Bitki gelişmesini teşvik eden bakteriler (PGPR), bitki dayanıklılığının artırılması ve engelleyici maddeler salgılayarak bitki patojenlerini baskılayıp gelişmeyi dolaylı olarak veya besin elementlerinin alınımını kolaylaştırılması ve salgılanan yardımcı maddelerle gelişmeyi doğrudan teşvik etmektedir. Bitki gelişmesinin doğrudan teşvik mekanizmaları tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte, bu bakterilerin bitkisel hormon üretebildiği (Çakmakçı ve ark., 2006; Aslantas ve ark., 2007), N fiksettiği (Şahin ve ark., 2004; Çakmakçı ve ark., 2007), bitki enzim aktivitesini artırdığı (Çakmakçı ve ark., 2007, 2009), mineral fosfatı ve demiri çözebildiği ve organik fosfat ve diğer besin elementlerini mineralize ettiği (Çakmakçı ve ark., 2006a); stres etileni miktarını azalttığı (Çakmakçı, 2009), tuz stresinin olumsuz etkilerini azalttığı (Yıldırım ve ark., 2008); vitamin üretimi, siderofor, antibiyotik, enzim ve fungusit bileşikler sentezleyerek veya rekabet gibi mekanizmalarla patojenlere karşı antagonistik etki gösterdiği (Kotan ve Şahin, 2002; Esitken ve ark., 2003; Ozaktan ve Bora, 2006; Akgül ve Mirik, 2008) bilinmektedir. Türkiye’de bakteri izolasyonu amacıyla rizosfer çalışmaları yetersiz olmakla birlikte, son yıllarda başlanmıştır (Çakmakçı ve ark., 2008). Yüksek yağışlı ve asidik topraklarda gübre etkinliği düşük olmakta (Thakuria ve ark., 2004), bu topraklarda fosfor Fe ve Al fosfatlar şeklinde tutulmakta alımı zorlamakta (Johnson ve Loeppert, 2006) ve P bakımından zayıf, asidik topraklarda N tüketimi fazla olan çay yetiştiriciliği için azot fikseri ve fosfat çözücülerden oluşan biyolojik gübre geliştirilmesi önem taşımaktadır (Çakmakçı ve ark., 2010).

MATERYAL ve METOT

Bakteri izolasyonu asidik Doğu Karadeniz Bölgesi çay rizosfer topraklarından alınan örneklerde gerçekleştirilmiştir. Steril koşullarda 10 g rizosfer toprağından başlanarak diluzyonlar hazırlanmış, diluzyonlardan ekim ve saflaştırma yapılmış, 7 gün inkübasyona bırakılmış, bakteriler saflaştırılmış ve izolatlar FAMEs analizi ve BIOLOG sistemine göre tanılanmış, fosfat çözücülük aktivitesinin belirlenmesinde NBIRP-BPB besiyeri kullanılmıştır (Çakmakçı ve ark., 2010). FAMEs ekstraktı gaz kromatografisi (HP6890) kullanılarak, pik tanısı kalibrasyon standartlarına göre yapılmış (Microbial ID 1200-A) ve bakterilere ait FAME profil TSBA 40 ve MIS datalarına göre belirlenmiştir. Nutrient agarda 24 saat geliştirilen bakteriler azotsuz sukroz ortamına ekilerek gelişimleri gözlemlenmiş, gelişim gücüne göre pozitif, negatif, kuvvetli pozitif ve zayıf pozitif olarak azot fiksasyon özellikleri değerlendirilmiştir. Bakterilerin Aminositiklopropan karboksilat deaminaze (ACCD) aktivitesi için DF Salt besiyeri hazırlanmıştır (Dworkin ve Foster, 1958; Penrose ve Glick, 2003). Steril (30 ml) su

icerisinde 100 mg ACC cozulup ve filtrelenerek besiyerine eklenmistir. Bakteriler DF Salt besiyerine ekilerek besiyeri uzerinde gorulen bakteri gelismisi ACC deminase pozitif olarak değerlendirilmistir.

Yaprak enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak (UV-1208) belirlenmistir. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) aktivitesi Beutler (1984), Glutasyon reduktaz (GR) aktivitesi Carlberg ve Mannervik (1985), protein iceriği ise Bradford metoduna (Bradford, 1976), toplam N ise hızlı Kjeldahl Distilasyon Metoduyla Vapodest 10 aparatıyla belirlenmistir (Bremner, 1996). Orneklerin P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu ve B icerikleri nitrik asithidrojen peroksit (2:3) asit ile 3 farkli adımda (1. adım; 145 oCde %75 mikrodalga gucunde 5 dakika, 2. adım; 180 oCde %90 mikrodalga gucunde 10 dakika ve 3. adım 100 oCde %40 mikrodalga gucunde 10 dakika) 40 bar basınca dayanıklı mikrowave yas yakma unitesine tabi tutulduktan (Mertens, 2005a)sonra ICP OES spektrofotometresinde okunarak belirlenmistir (Mertens, 2005b).

Deneme saksılarda Fener 3 cay klonunda tek yapraklı koklendirilmis cay celikleriyle kurulmus, kullanılan tüm araclar, fidan ve saksılar steril edilmistir. Asılama icin koklenmis fidanlar bakteri suspansiyonu icine daldırılarak 1 saat bekletilmis, akabinde dikim yapılmıs, artan süspansiyon ve ikinci yıl inokulum fidanların kok bolgesine enjekte edilmistir. Kullanılan izolatların ozellikleri Cizelge 1’de verilmiştir. Deneme her tekerrurde 12 farkli pot olmak uzere 3 tekerrürlü kurulmuştur (14 x 3 x 12 = 504 fidan). Denemede her bir uygulama 36 fidandan oluşmaktadır. Parametreler denemenin ucuncu yılında iki farkli hasatla değerlendirilmistir.

Çizelge 1. Fener 3 çay klonunda fidanlarla kurulan pot denemede kullanılan izolatlar ve bazı özellikleri.

Uygulama	SİM indeks*	Azot fiksetme	Fosfat çözme	ACCD aktivitesi	Karbon sayısı(adet)	Aşılama yöntemi
Kontrol *						
N						
NPK						
<i>Bacillus subtilis</i> 6/3	0.600	K+	K+	Yüksek	19	Dal/Enj
<i>Bacillus megaterium</i> 21/3	0.797	K+	+	Yüksek	65	Dal/Enj
<i>Bacillus megaterium</i> 47/9	0.769	K+	K+	Yüksek	13	Dal/Enj
<i>Bacillus pumilus</i> 16/8	0.506	+	-	Yüksek	36	Dal/Enj
<i>Paenibacillus polymyxa</i> 14/3	0.591	+	-	TY	33	Dal/Enj
<i>Paenibacillus macquariensis</i> 69/6	0.744	+	+	TY	19	Dal/Enj
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 4/9	0.533	+	+	Yüksek	43	Dal/Enj
<i>Pseudomonas fluorescens</i> A 48/3	0.896	+	+	Yüksek	53	Dal/Enj
<i>Burkholderia cepacia</i> 31/2	0.626	K+	+	Yüksek	55	Dal/Enj
<i>Lysobacter enzymogenes</i> 4/6	0.816	+	-	TY	38	Dal/Enj
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 63/5	0.771	K+	K+	TY	48	Dal/Enj

* N: Amonyum nitrat (%33) 48 kg/da (480 mg/fidan), NPK: Kompoze (25-8-5) 48 kg/da (480 mg/fidan), Kontrol: gübre ve bakteri uygulanmamış, SİM indeks: Benzerlik indeksi, ACCD: Aminositropolan karboksilat deaminaze, TY: Test yapılmadı; +: pozitif, K⁺: kuvvetli pozitif, Dal/Enj: Daldırma/Enjeksiyon, Deneme her tekerrürde 12 fidan olacak şekilde 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur (14 x 3 x 12=504 Saksı fidan).

ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA

Đzole edilerek secilen 644 izolatın 394’unun azot fiksedebildiği, 305 izolatın fosfat cozuculuk ozelliği gosterdiği, 93 izolatın ACC deaminaze aktivitesine sahip olduğu ve 265 bakteri izolatının aynı anda erbest azot fiksedebildiği ve fosfat cozebildiği belirlenmistir. Benzerlik Đndeksi, karbon kullanım tkinliği, ACCD aktivitesi, azot fiksasyon ve fosfat cozuculuk ozelliği yuksek olarak seçilen 11 izolat mineral azot ve NPK gubrelemesi ve kontrole kıyasla test edilmistir. Denemenin 2010 yılı sonuclarına gore, kontrole kıyasla 7 izolat ve NPK uygulaması fidan capı, 4 izolat ve NPK uygulaması ise fidan uksekliğini onemli miktarda artırmıstır (Cizelge 2). En yuksek fidan capı değerine *Bacillus pumilus* 16/8 asılaması ile ulasılırken, bunu sırasıyla *Lysobacter enzymogenes* 4/6, *Paenibacillus polymyxa* 14/3, *Bacillus subtilis* 6/3, *Bacillus megaterium* 21/3 ve 47/9 ve

Burkholderia cepacia 31/2 asılaması ve NPK uygulaması izlemistir. Fidan yuksekliği bakımından B. pumilus 16/8, Pseudomonas fluorescens 4/9, P. polymyxa 14/3, Bacillus megaterium 47/9 asılamaları ve NPK uygulaması etkin bulunmudur. Ozellikle kullanılan bakterilerin çay fidanı gelişmesinde önemli bir parametre olan gövde çapını artırmis olması önemli bir sonuctur.

Kontrolle kıyasla dal+yaprak ağırlığı ilk hasatta 7, ikinci hasatta 5, her iki hasat toplamında ise 7 bakteri izolatu asılamasıyla artarken; yaprak ağırlığını mineral gübre uygulamaları ile birlikte, ilk hasatta 6, ikinci hasatta 7 ve toplamda ise 8 izolat önemli ($p < 0.05$) miktarda artırmıştır. Toplamdal+yaprak ağırlığı ilk hasatta Pseudomonas fluorescens 4/9 ve 48/3, B. megaterium 21/3, B. Subtilis 6/3, Paenibacillus macquariensis 69/6, P. polymyxa 14/3 ve B. pumilus 16/8; ikinci hasatta B. Subtilis 6/3, P. fluorescens 4/9, B. megaterium 21/3, B. pumilus 16/8 ve Stenotrophomonas maltophilia 63/5 asılamaları ile önemli miktarda artmıştır. Yaprak ağırlığı ilk hasatta NPK gübrelemesi ve B. Subtilis 6/3 inokulasyonu ile en yüksek bulunurken bunu sırasıyla B. megaterium 21/3, P. fluorescens 48/3, P. macquariensis 69/6, P. fluorescens 4/9 ve P. polymyxa 14/3 izlemistir. İkinci hasatta ise NPK uygulaması, B. subtilis 6/3 S. maltophilia 63/5, B. pumilus 16/8, P. fluorescens 4/9, B. Megaterium 21/3, L. enzymogenes 4/6 ve B. cepacia 31/2 asılamaları en yüksek yaprak verimi artışı sağlamıştır. Hasat tarihlerine göre bakteri etkinlikleri değismekle birlikte yaprak verimi bakımından özellikle B. subtilis 6/3, B. megaterium 21/3, P. fluorescens 4/9 ve 48/3, B. pumilus 16/8, P. polymyxa 14/3, P. macquariensis 69/6 ve S. maltophilia 63/5 izolatları etkin olmuştur. Çayda verimin ana göstergesi olan yaprak verimi bakımından B. subtilis 6/3 ve B. megaterium 21/3 izolatlarının azot uygulamasından daha yüksek olmak üzere NPK uygulaması ile benzer sonuc verdiği görülmüştür.

Çizelge 2. Fener 3 çay klonunda fidanlarla bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının gelişmeye etkisi.

Uygulama*	Gövde çapı (cm)	Bitki yüksekliği (cm)	I hasat		II Hasat		Toplam	
			Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan)	Yaprak ağırlığı (g/fidan)	Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan)	Yaprak ağırlığı (g/fidan)	Dal+yaprak ağırlığı (g/fidan)	Yaprak ağırlığı (g/fidan)
Kontrol	3.5 c	45.8 bc	7.8 g	6.8 e	8.3 ef	6.4 f	16.1 g	13.2 f
N	4.0 a-c	51.8 ab	11.0 cd	8.5 b	8.5 ef	7.2 de	19.4 c	15.7 c
NPK	4.1 ab	54.5 a	13.0 a	9.7 a	10.5 a	8.5 ab	23.5 a	18.2 ab
6/3	4.3 ab	46.1 bc	10.9 d	9.7 a	10.8 a	8.9 a	21.7 b	18.6 a
21/3	4.2 ab	47.5 bc	11.8 bc	9.4 a	9.7 bc	7.9 b-d	21.5 b	17.3 b
47/9	4.1 ab	53.9 a	8.2 fg	6.5 e	8.8 de	6.8 ef	17.0 e-g	13.3 ef
16/8	4.5 a	57.3 a	8.9 f	6.9 de	9.5 bc	8.0 bc	18.4 d	14.9 cd
14/3	4.1 ab	54.3 a	9.8 e	7.5 cd	8.1 ef	6.9 ef	17.9 de	14.4 de
69/6	4.0 a-c	44.3 c	9.9 e	8.0 bc	7.8 f	6.3 f	17.8 d-f	14.3 de
4/9	4.0 a-c	56.3 a	9.7 e	7.6 cd	10.2 ab	8.0 bc	19.9 c	15.5 c
48/3	3.8 bc	44.5 c	11.9 b	9.3 a	7.8 f	6.4 f	19.7 c	15.7 c
31/2	4.1 ab	46.5 bc	7.5 g	6.2 e	8.7 de	7.2 de	16.2 g	13.4 ef
4/6	4.5 a	46.5 bc	8.0 fg	6.4 e	8.2 ef	7.7 de	16.2 g	13.8 ef
63/5	4.0 a-c	46.7 bc	7.6 g	6.2 e	9.2 cd	8.2 b	16.8 fg	14.3 de

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ($p < 0.05$) değildir.

Yaprak makro ve mikro element içeriği bakteri ve gübre uygulamalarıyla değismistir (Çizelge 3). kullanılan 11 izolattan kontrole kıyasla, 7'si yaprak N, P, Ca ve B içeriğini; 5'i K ve S içeriğini ve 9 izolat ise Mg içeriğini önemli miktarda ($p < 0.05$) artırmıştır. Toplam 8 izolat yaprak Fe ve Mn, 10 izolat Zn ve 6 izolat ise Cu içeriğini artırmıştır. Yaprak N içeriği B. subtilis 6/3, B. megaterium 21/3 ve 47/9 ve B. cepacia 31/2 asılaması, NPK ve N gübrelemesi ile yüksek oranda artmıştır. Yaprak P içeriği bakımından en etkin izolatlar basta S. maltophilia 63/5 olmak üzere, P. fluorescens 4/9 ve P. macquariensis 69/6 olmuştur, bunu gübre uygulamaları izlemistir. Potasyum içeriği bakımından S. maltophilia 63/5, B. megaterium 21/3 ve 47/9 ve NPK uygulaması; Ca içeriği P. macquariensis 69/6 ve P. polymyxa 14/3; yaprak Mg ve S içeriği bakımından ise S. maltophilia 63/5 ve P. macquariensis

69/6 asılamaları özellikle etkin olmuştur. Yaprak Fe ve B içeriği bakımından P. polymyxa 14/3, B.pumilus 16/8 ve P. macquariensis 69/6; çinko P. fluorescens 48/3 ve 4/9 ve P. macquariensis 69/6; bakır içeriği B. cepacia 31/2, S. maltophilia 63/5 ve P. macquariensis 69/6; mangan içeriği ise P.polymyxa 14/3 en etkin izolatlar olmuştur. Fener 3 çay klonunda PGPR ile yaprak besin element içeriği mineral gübrelemeye eş veya daha yüksek oranda artmış, bu izolatların çay bitkisinin beslenmesini ve besin alımını teşvik ettiği ortaya konulmuştur. Gübre ve kontrole kıyasla etkin izolatların yaprak makro ve mikro element içeriğini artırması önemli bir bulgudur. Çay yapraklarının P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn ve Zn içeriğinin PGPR kullanılarak artırılacağı ortaya konulmuştur.

Yaprak enzim analiz sonuçlarına göre test edilen 11 bakteri izolatından 8'i ve mineral azot uygulaması Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), NPK uygulaması ve 8 izolat 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD), 6 izolatın ise Glutasyon reduktaz (GR) enzim aktivitesini artırdığı belirlenmiştir (Çizelge 4). En yüksek G6PD aktivitesine P. fluorescens 48/3 asılaması ile ulaşılırken bunu sırası ile S. maltophilia 63/5, P. macquariensis 69/6, P. fluorescens 4/9, L. enzymogenes 4/6, B. Megaterium 21/3 ve B. pumilus 16/8 izlemiştir. Çay yapraklarında 6PGD aktivitesi B. subtilis 6/3, P. Fluorescens 4/9, B. pumilus 16/8, P. fluorescens 48/3, B. megaterium 21/3, S. maltophilia 63/5 ve P. macquariensis 69/6; GR enzim aktivitesi ise P. fluorescens 48/3, B. cepacia 31/2, B. Megaterium 47/9, B. megaterium 21/3, P. macquariensis 69/6 ve L. enzymogenes 4/6 asılamaları ile kontrole kıyasla önemli miktarda artarken, gübrelemenin önemli bir etkisi olmamıştır. Bu bakteriler stres koşullarında çay gelişmesini ve strese toleransını olumlu etkileyebilecektir. ACCD aktivitesi gösteren bakteriler "stres etileni" oluşumunu azaltarak stres koşullarında bitki gelişimini teşvik etmektedir (Çakmakçı, 2009). Çayda PGPR kullanılarak yaprak antioksidan ve OPPP enzim aktivitesinin artırılabilmiş olması, gelecekte strese tolerans araştırmalarına önemli katkı sağlayacaktır.

Çizelge 3. Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının fener 3 tipi çay fidanlarında yaprak makro ve mikro element miktarına etkisi.

Uygulama	Makro element g/kg kuru madde*						Mikro element mg/kg kuru madde*				
	N (%)	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Cu	Mn	Zn	B
Kontrol	2.1 d	2.8 de	20.9de	8.3 e	1.8 f	3.3 e	101 f	12 ef	575 f	23 g	12 g
N	2.4 ab	3.7 bc	21.9 c-e	12.1 c	3.6 a	4.1 c-e	112 f	14 ef	1788 b	44 ef	12 g
NPK	2.5 a	3.8 b	26.4 ab	15.9 b	3.0 bc	4.4 b-d	237 d	29 b	1475 c	48 cd	27 d-f
6/3	2.5 a	3.4b-d	24.8 bc	15.3 b	2.4 d	4.8 bc	157 e	11 f	1195 d	46 de	36 b-d
21/3	2.5 a	3.6 bc	26.3 ab	8.3 e	2.3 de	4.1c-e	231 d	25 b-d	453 f	44 ef	45 a-c
47/9	2.5 a	3.5 bc	26.4 ab	8.9 de	2.3 de	4.0c-e	104 f	11 f	968 e	38 f	22 e-f
16/8	2.3 a-c	3.6 bc	24.9 bc	11.1 cd	2.8 c	4.7 bc	575 b	22 d	570 f	44 ef	50 a
14/3	2.2 b-d	3.2 cd	22.9 b-d	22.9 a	3.0 bc	5.1 b	642 a	24 cd	2226 a	54 cd	46 ab
69/6	2.2 b-d	4.8 a	24.5 b-d	24.5 a	3.3 ab	6.6 a	319 c	27 bc	1229 d	71 b	35 b-d
4/9	2.2 b-d	4.8 a	23.1 b-d	8.1 e	1.9 ef	3.6 de	210 d	15 ef	882 e	65 b	17 fg
48/3	2.3 a-c	3.5 bc	23.6 b-d	10.5c-e	1.8 f	4.1c-e	113 f	16 e	582 f	99 a	16 fg
31/2	2.4 ab	3.3b-d	23.2 b-d	12.2 c	2.8 c	3.4 e	159 e	84 a	1036 e	54 c	34 cd
4/6	2.1 d	2.5 e	18.6 e	15.3 b	2.4 d	3.2 e	122 f	11 f	1414 c	23 g	11 g
63/5	2.3 a-c	4.9 a	29.9 a	12.1 c	3.4 a	5.2 b	229 d	29 b	962 e	53 cd	33 de

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar kendi grubunda önemli ($p < 0.05$) değildir

Çizelge 4. Bakteri ve kimyasal gübre uygulamalarının fener 3 çay klonunda yaprak antioksidan ve oksidatif pentoz fosfat yolu enzim aktivitesine etkisi.

Uygulama	GR (EU/mg) *	G6PD (EU/mg)	6PGD (EU/mg)	mg protein
Kontrol	0.95 e	0.61 de	0.47 d	20.07 ab
N (48 kg/da) AN	1.08 c-e	0.79 bc	1.45 ab	20.12 ab
NPK (48 kg/da)	1.02 de	0.61 de	0.93 c	20.18 ab
<i>Bacillus subtilis</i> 6/3	1.09 c-e	0.71 cd	1.60 a	20.38 ab
<i>Bacillus megaterium</i> 21/3	1.26 c	0.83 bc	1.04 bc	20.23 ab
<i>Bacillus megaterium</i> 47/9	1.26 c	0.50 e	0.93 c	19.72 ab
<i>Bacillus pumilus</i> 16/8	0.99 de	0.81 bc	1.11 bc	19.55 b
<i>Paenibacillus polymyxa</i> 14/3	0.98 de	0.71 cd	0.88 cd	19.81 ab
<i>Paenibacillus macquariensis</i> 69/6	1.26 c	0.92 b	0.97 c	19.58 b
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 4/9	1.06 c-e	0.85 bc	1.22 ac	20.07 ab
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 48/3	1.72 a	1.15 a	1.07 bc	19.53 b
<i>Burkholderia cepacia</i> 31/2	1.50 b	0.78 bc	0.87 cd	20.08 ab
<i>Lysobacter ez. enzymogenes</i> 4/6	1.18 cd	0.83 bc	0.90 cd	19.60 ab
<i>Stenotroph. maltophilia</i> 63/5	1.06 c-e	0.93 b	1.01 bc	20.47 a

* G6PD: Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz (E.C. 1.1.1.49); 6PGD: 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (EC.1.1.1.44) GR: Glutatyon redüktaz (E.C. 1.6.4.2). Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemli ($p < 0.05$) değildir

SONUC

Çoklu kıstaslara göre seçilen izolatlar beklenenden daha yüksek oranda etkinlik göstermiştir. Denemelerin toplu sonuçlarına göre, bakteri etkinliği ele alınan parametreler ve hasat tarihlerine göre değişmiştir. Çay gelişmesi ve yaprak verimi basta olmak üzere, çay yapraklarında makro ve mikro element içeriği, G6PD, 6PGD ve GR enzim aktivitesi bakımından özellikle *B. subtilis* 6/3, *B. megaterium* 21/3 ve 47/9, *P. fluorescens* 4/9 ve 48/3, *B. pumilus* 16/8, *P. polymyxa* 14/3, *P. macquariensis* 69/6, *S. maltophilia* 63/5, *B. cepacia* 31/2 ve *L. enzymogenes* 4/6 izolatları etkin olmuştur. Yüksek etkinlik gösteren izolatlar çay gelişme ve yaprak verimini kullanılan azot dozlarından daha fazla artırabilmistir. Bu bakterilerin çay yaprak verimini, besin elementi içeriği ve enzim aktivitesini artırabileceği, organik yetistircilikte kullanılabilceği, stres koşullarında gelişmeyi olumlu etkileyebileceği ve bitkinin strese toleransını artırabileceği belirlenmiştir. Bu bakterilerden ikili ve uclu kombinasyonların hazırlanarak test edilmesi ve ülkemiz çay tarımında kullanılabilcek biyolojik gübre formülasyonlarının hazırlanması çalışmalarına gereksinim vardır.

KAYNAKLAR

- Akgul, D. S. and Mirik, M. 2008. Biocontrol of *Phytophthora capsici* on pepper plants by *Bacillus megaterium* strains. *Journal of Plant Pathology*, 90: 29-34.
- Aslantas, R., Cakmakçı, R. and Sahin, F. 2007. Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Scientia Horticulturae*, 111;371-377.
- Beutler, E. 1984. Red Cell Metabolism. *Manual of Biochemical Methods*. Third Edition, Grune Stratton, Inc. Orlando, FL 32887, London.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72 : 248-251.
- Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. "Alınmıştır: *Methods of soil analysis part 3: chemical methods*. (ed.) Bartels J. M. ve Bigham, J. M., The Soil Science Society of America and the American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 1085-1121".
- Carlberg, D. and Mannervik, B. 1985. Glutathione Reductase Assay. *Methods in Enzymol.* Academic Press, Orlando, FL.113, 484-495.

Cakmakcı, R. 2009. Stres koşullarında ACC deaminaze üretici bakteriler tarafından bitki gelişiminin teşvik edilmesi. Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 40(1), 109-125.

Cakmakcı, R., Donmez, F., Aydın, A. and Sahin, F. 2006. Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biology & Biochemistry*, 38: 1482-1487.

Cakmakcı, R., Erat, M., Erdoğan, U. and Donmez F. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 170: 288-295.

Cakmakcı, R., Erdoğan, U., Kotan, R., Oral, B. ve Donmez, F. 2008. Coruh vadisinde yabancı ahududu rizosfer topraklarında heterotrof azot fikseri bakteri çeşitliliği 4. Ulusal Bitki Besleme ve Gübre Kongresi, 8-10 Ekim 2008 Konya, 706-717.

Cakmakcı, R., Erat, M., Oral, B., Erdoğan, U. and Sahin, F., 2009a. Enzyme activities and growth promotion of spinach by indole-3-acetic acid-producing rhizobacteria. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 84:375-380.

Cakmakcı, R., Donmez, M.F., Ertürk, Y., Erat, M., Haznedar, A. and Sekban, R., 2010. Diversity and metabolic potential of culturable bacteria from the rhizosphere of Turkish tea grown in acidic soils. *Plant and Soil*, 332 (1-2): 299-318.

Dworkin, M. and Foster, J. 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *The Journal of Bacteriology*, 75: 592-601

Esitken, A., Karlıdağ, H., Ercisli, S., Turan, M. and Sahin, F. 2003. The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloglu), *Australian Journal of Agricultural Research*, 54: 377-380.

Johnson, S.E. and Loeppert, R.H. 2006. Role of organic acids in phosphate mobilization from iron oxide. *Soil Science Society of America Journal*, 70: 222-234

Kotan, R. ve Sahin F. 2002. Bitki hastalıkları ile biyolojik mücadelede bakteriyel organizmaların kullanılması. Ataturk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 31: 111-119.

Mertens, D. 2005a. AOAC Official Method 922.02. Plants Preparation of Laboratory Sample. "Alınmıştır: Official Methods of Analysis, 18th edn. (ed.) Horwitz, W., ve G.W. Latimer, Chapter 3, AOAC-International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA, 1-2".

Mertens, D. 2005b. AOAC Official Method 931.01. Phosphorus in Plants. "Alınmıştır: Official Methods of Analysis, 18th edn., (ed.) Horwitz, W., ve G.W. Latimer, Chapter 3, AOAC International Suite 500, 481. North Frederick Avenue, Gaithersburg, Maryland 20877-2417, USA, 21-22.

Ozaktan, H. and Bora, T. 2006. Studies on biological control of fire blight with some antagonistic GAP VI. Tarım Kongresi, 09-12 Mayıs 2011 Sunulu Bildiri 28 bacteria. Proceedings of the Xth International Workshop on Fire Blight, ACTA Horticulturae, 704: 337-340.

Penrose, D.M. and Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*, 118 (1): 10-15.

Sahin, F., Cakmakcı, 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.

Thakuria, D., Talukdar, N.C., Goswami, C., Hazarika, S., Boro, R.C. and Khan, M.R. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. *Current Science*, 86: 978-985.

Yıldırım, E., Turan, M. and Donmez, M.F. 2008. Mitigation of salt stress in radish (*Raphanus sativus* L.) by plant growth promoting rhizobacteria. *Romanian Biotechnological letters*, 13: 3933-3943.