



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**NANO GÜMÜŞ PARTİKÜLLERİ KULLANILARAK HAZIRLANAN
BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de
Bary'e KARŞI ANTİFUNGAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sinem GÜL CILIZ

Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN

TOKAT- 2023

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Abdurrahman danışmanlığında hazırlamış olduğum “Nano Gümüş Partikülleri Kullanılarak Hazırlanan Bazı Bitki Ekstraktlarının *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary’e Karşı Antifungal Aktivitesinin Belirlenmesi” adlı Yüksek Lisans Tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

28/04/2023

Sinem GÜL CILIZ

JÜRİ KABUL VE ONAY

Sinem GÜL CILIZ tarafından hazırlanan “**Nano Gümüş Partikülleri Kullanılarak Hazırlanan Bazı Bitki Ekstraktlarının *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary’e Karşı Antifungal Aktivitesinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 28/04/2023 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Danışman

Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN

Akdeniz Üniversitesi

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

.....

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

.....

ONAY

...../...../.....

Prof. Dr. Mehmet GÜNEŞ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

NANO GÜMÜŞ PARTİKÜLLERİ KULLANILARAK HAZIRLANAN BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary'e KARŞI ANTİFUNGAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Yüksek lisans, Bitki Koruma Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN
Ocak 2023, viii 54 sayfa

Bu çalışma, Tokat Antalya ve Ordu illerinde doğal olarak yetişen hayıt, kaldirik ve şerbetçi otu bitkilerinin nano gümüş partikülü ile sentezlenmesi sonucunda oluşan bitki ekstraktlarının *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Antifungal aktivite çalışmaları *in vitro* (PDA ortamında), *in vivo* (hıyar meyvesi üzerinde) koşullar altında bitki ekstraktları ve nano gümüş solüsyonunun farklı dozları kullanılarak belirlenmiştir. Yöntem olarak hayıt (çiçek-yaprak), kaldirik (çiçek-yaprak) ve şerbetçi otu (çiçek) kısımlarının saf su ile hazırlanan sulu ekstraktları, nano gümüş solüsyonu ve nano gümüş katkılı bitki ekstraktının %2.5, 5, 10, 20 ve 50'lik dozlarda *S. sclerotiorum* üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. Kontrol olarak *S. sclerotiorum* ve %80 thiram kullanılmıştır. Nano gümüş solüsyonu ile kurulan deneme sonucunda patojen gelişimini %100 engellediği gözlemlenmiştir. Beş farklı bitki ekstraktı ile yapılan çalışmada ise patojen gelişimi hayıt yaprak ve hayıt çiçek haricinde diğer üç bitki kısmında %50'den fazla oranlarda engellediği ve nano gümüşlü bitki ekstraktı ile yapılan çalışmada şerbetçi otu çiçek, kaldirik yaprak ve kaldirik çiçek %50'lik dozlarda %100 engelleme oranları kaydedilmiştir. *In vivo* koşullarda hıyar meyvesi üzerinde yapılan çalışmada ise kullanmış olduğumuz dozlar fungusun gelişimini engellemeye yeterli olmamıştır. Sonuç olarak *in vitro* koşullarda yapılan çalışmada hayıt, kaldirik ve şerbetçi otunun çiçek gövde ve yapraklarından elde edilen ekstraktın antifungal aktiviteye sahip olduğu ve bitki ekstraktlarının nano gümüş ile birleşimi sonucunda etkinliğinin artarak %100'e kadar patojen gelişimini engellediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki Ekstraktı, Nano Gümüş, *S. sclerotiorum*, Antifungal Aktivite, *In Vivo* ve *In Vitro*

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SOME PLANT EXTRACTS PREPARED USING NANO SILVER PARTICLES AGAINST *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary

Master Thesis, Department of Plant Protection

Thesis Advisor: Assoc Prof. Abdurrahman ONARAN

January 2023, viii 54 pages

This study was carried out to determine the antifungal activity of plant extracts and with nano silver particles against *Sclerotinia sclerotiorum*, which are formed as a result of synthesis chasteberry, kaldirik and hops plants naturally in Tokat, Antalya and Ordu provinces. Antifungal activity studies were determined under *in vitro* (in PDA medium) and *in vivo* (on cucumber fruit) conditions, different doses of using plant extracts and nano silver solution. As a method, aqueous extracts of chasteberry (flower-leaf), kaldirik (flower-leaf) and hops (flower) parts, prepared with pure water, nano silver solution, and plant extract with nanosilver added 2.5%, 5%, 10%, 20%, and 50% doses, its effectiveness on *S. sclerotiorum* has been studied. *S. sclerotiorum*, and 80% thiram were used as controls. As a result of the experiment with nano silver solution, it was observed that it inhibited pathogen growth 100%. In the study conducted with five different plant extracts, it was found that pathogen development was inhibited by more than 50% in the other three plant parts, except for the chaste leaf and flower, and in the study with the nano silver plant extract, hops flower, caldiric leaf and kaldirik flower were used at 50% doses 100% blocking rates have been recorded. In the study conducted on cucumber fruit *in vivo*, the doses we used were not sufficient to inhibit the growth of the fungi. As a result, it was determined that the extract obtained from the flower stem and leaves of chasteberry, caldiric and hops in the study conducted *in vitro* conditions had antifungal activity. In addition, as a result of the combination of plant extracts with nano silver, it was determined that its effectiveness increased and it inhibited the development of pathogens up to 100%.

Keywords: Plant Extract, Nano Silver, *S. sclerotiorum*, Antifungal Activity, *In Vivo* and *In Vitro*

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında tecrübelerini bilgilerini benden esirgemeyen, tez çalışmamın belirlenmesinden sonuçlandırılmasına kadar desteğini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Abdurrahman ONARAN'a, Tez çalışmam boyunca katkılarından dolayı kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR'a, yine tez çalışmamda bana yardım eden Dr. Öğr. Üyesi Sabriye BELGÜZAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca maddi ve manevi her türlü fedakarlıkta bulunan desteklerini hiç esirgemeyen daima arkamda duran babam Haki GÜL'e, annem Ayşe GÜL'e ve eşim Gökhan CILIZ'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Sinem GÜL CILIZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) de Bary.....	6
2.2. Kaldırık (<i>Trachystemon orientalis</i>)	7
2.3. Şerbetçi Otu (<i>Humulus lupulus</i>)	8
2.4. Hayıt (<i>Vitex agnus-castus</i>).....	9
2.5. Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalleri ile Yapılan Çalışmalar	10
2.6. <i>S. sclerotiorum</i> ile Yapılan Çalışmalar	13
2.7. Nano gümüş ile İlgili Yapılan Çalışmalar	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. MATERYAL	20
3.1.1. Bitki Materyalleri.....	20
3.1.2. Fungus Kültürü	20
3.2. YÖNTEM	21
3.2.1. Gümüş Partiküllerinin Elde Edilmesi	21
3.2.2. Bitki Ekstraktının Elde Edilmesi	22
3.2.3. Şerbetçiotu (<i>Humulus lupulus</i>), Hayıt (<i>Vitex agnus-castus</i>) ve Kaldırık (<i>Trachystemon orientalis</i>) Su Ekstraktından Nano Gümüş Partiküllerinin Elde Edilmesi	22
3.2.4. <i>In vitro</i> koşullarda bitki ekstraktlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesi	24
3.2.5. <i>In vitro</i> koşullarda nano gümüş solüsyonunun <i>S. sclerotiorum</i> üzerindeki antifungal aktivitesinin belirlenmesi.....	25
3.2.6. <i>In vitro</i> koşullarda nano gümüş partikülleri ilave edilmiş bitki ekstraktının <i>S. sclerotiorum</i> üzerindeki antifungal aktivitesi	25
3.2.7. <i>In-vivo</i> koşullarda sulu nano-gümüş bitki ekstraktlarının antifungal etkilerinin belirlenmesi	28
3.3. İSTATİSTİK VERİLERİ	29
4. BULGULAR.....	30
4.1. <i>IN VITRO</i> ANTİFUNGAL ÇALIŞMA SONUÇLARI.....	30
4.1.1. Nano gümüş partikül solüsyonlu deneme çalışma sonuçları	30
4.1.2. Bitki ekstraktının <i>S. sclerotiorum</i> üzerindeki antifungal aktivite sonuçları	31

4.1.3. Nanogümüş katkılı bitki ekstraktı ile hazırlanan antifungal aktivite çalışma sonuçları	32
4.2. IN VIVO ANTİFUNGAL AKTİVİTE ÇALIŞMA SONUÇLARI	34
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	35
6. KAYNAKLAR	39
7. ÖZGEÇMİŞ	43



SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

ŞÇ	Şerbetçiotu çiçek
HY	Hayıt yaprak
HÇ	Hayıt çiçek
KÇ	Kaldirik çiçek
KY	Kaldirik yaprak
SS	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>
PDA	Patato dextrose agar

Simgeler

ml	Mililitre
mg	Miligram
µm	Mikrometre
agnp	Nano gümüş partikül
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
AgNO ₃	Gümüş Nitrat

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. Türkiye’de 2021-2022 Yıllarında Yapılan Üretim Miktarları.....	2
Şekil 2.1. <i>S. sclerotiorum</i> ’un tarım alanlarındaki görünümü.....	7
Şekil 2.2. Kaldirik Bitkisi Çiçek, Gövde ve Kök Yapısı.....	8
Şekil 2.3. Şerbetçi Otu Bitkisi (Anonim,2021).....	9
Şekil 2.4. Hayıt Bitkisi (Anonim,2022a).....	9
Şekil3.1.Nanopartikül solüsyonunun hazırlanması(a) ve hazırlanan nanopartikül solüsyonu ile bitki ekstraktının karıştırılması(b).....	21
Şekil 3.2. a)Orbital çalkalayıcı b) Bitki ekstraktının filtre kağıdından geçirilmesi	22
Şekil 3.3. Nano gümüşlü bitki ekstraktlarında meydana gelen renk değişimi	23
Şekil 3.4. pH Metre.....	24
Şekil 3.5. Bitki ekstraktının PDA ile karıştırılması.....	25
Şekil 3.6. <i>In vitro</i> laboratuvar çalışmaları.....	26
Şekil 3.7. UV-Visible spektrofotometrede nano gümüşlü KÇ, KY ve ŞÇ bitki ekstraktının ölçümleri.....	27
Şekil 3.8. Hıyar meyvesi üzerinde uygulanan nano partiküllü bitki ekstraktının <i>S. sclerotiorum</i> etkinlik çalışması.....	28
Şekil 4.1. Nano gümüş partiküllü petri çalışmasında %2.5 ve %50’lik dozlardaki gelişmelerinin petri görselleri.....	30
Şekil 4.2.Nano gümüşlü bitki ekstraktlarının <i>S. sclerotiorum</i> üzerindeki miselyum gelişimine etkisi.....	33
Şekil 4.3. Hıyar meyvesi üzerinde yapılan çalışma da <i>S. sclerotiorum</i> üzerindeki aktivitesi.....	34

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1. <i>S. sclerotiorum</i> 'un taksonomik sınıflandırması.....	6
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan bitki materyalleri.....	20
Çizelge 3.2. İlk ölçüm ve 24 saat sonraki pH ölçüm değerleri.....	26
Çizelge 4.1. Bitki ekstraktının <i>S. sclerotiorum</i> 'a karşı antifungal aktivite oranları.....	31
Çizelge 4.2. Nano gümüşlü bitki ekstraktının <i>S. sclerotiorum</i> 'a karşı antifungal aktivite oranları(%).....	32



1.GİRİŞ

Tarımsal üretim faaliyetleri 10-15 bin yıl önce, insanlar çevre faktörlerini kendi ihtiyaçlarına göre şekillendirmeye başladığı zaman ortaya çıkmıştır. Tarımsal üretim Mezopotamya, Çin, Güney Amerika ve Afrika'nın Sahra Çölü'nün güneyinde kalan bölgesi gibi birçok bölgede yayılmaya başlamıştır (Anonim, 2023).

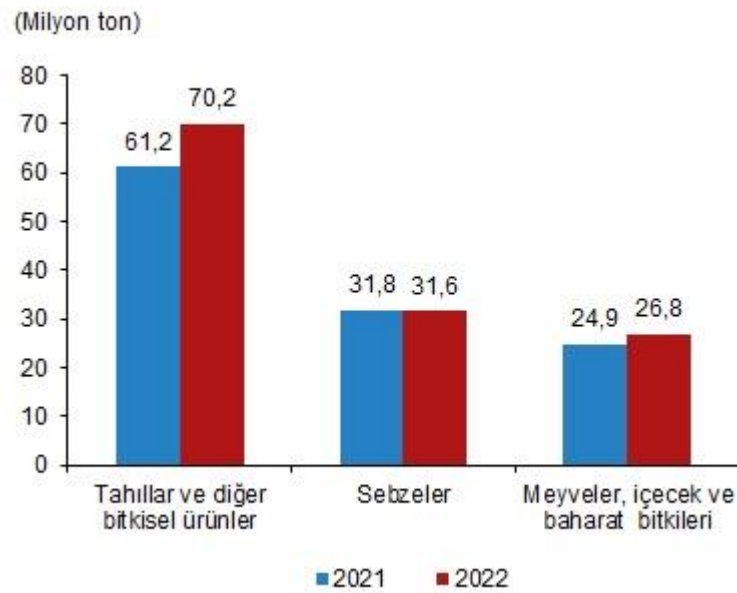
Tarım insanlık tarihinin bilinen en eski ve ilk mesleklerinden birisidir. Tarımsal faaliyetlerin yapıldığı çiftçilik insanların temel ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla gıda üretimine yönelik olarak yapılmaktadır. Ayrıca tarım günümüzde gıda üretiminin devamı olan biyolojik gereksinimleri karşılayan bir faaliyet serisi olarak süreklilik kazanmıştır. Bu yönüyle diğer iş kollarından önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Bunun yanında tarımsal faaliyetler tüm Dünya'da yaşamsal öneme sahiptir (Direk, 2012).

Tarım coğrafyası insanları yaşadığı ortamla birlikte ele alarak tarımsal faaliyetlerin ortamla ilişkilerini belirlemektedir. İnsanlar tarımsal faaliyetlerin gerçekleşmesi için yaşadıkları ortamlara farklı müdahaleler edip değişik bir görüntü kazandırma yoluna gitmişlerdir. Aynı zamanda tarım coğrafyası tarımsal görünümün mekânsal faktörleriyle ilgili olup, 1950 ve 1970 li yıllar coğrafya tarım coğrafyası ve diğer bilimler için dönüm noktası olmuştur. Bu durum tarım coğrafyasını büyük oranda etkilemesine rağmen tüm dünyada aynı yoğunlukta etki gösterememiştir (Aliağaoğlu, 2019).

Son yıllarda tarımsal ürünlere olan talebin artması sonucunda bitkisel ve hayvansal üretiminde artış gözlemlenmiştir. Tarımsal üretimde hastalık ve zararlılara karşı üretimi artırmak amacıyla pestisit kullanımı yoğun şekilde artış göstermiştir. Buna göre Dünyadaki pestisitlerin satışı 2000-2010 yılları arasında %28.9 oranında artmıştır. Yine aynı şekilde bu oran 2011-2016 yılları arasında %5 daha büyüyerek Dünya'da ile 2017 yılında pazarın 68.5 milyar dolara çıkmasını sağlamıştır (Kaymak ve Sermin, 2015). Günümüzde Dünya'da ve ülkemizde benzer şekilde yoğun pestisit kullanımına devam edilmektedir.

Türkiye de ise tarımsal üretim ekonomiyi oluşturan temel yapı taşlarından biridir. Üretim ve tüketim faaliyetleri dünyada olduğu gibi ülkemizde de her insanı etkilemektedir. Türkiye'de 2021-2022 yıllarında yapılan üretim miktarlarına bakıldığında üretim dengesi

her geçen yıl değişmektedir. TÜİK verilerine göre 2022 yılı üretim miktarlarında, 2021 yılı istatistikleri ile karşılaştırıldığında tahıllar ve diğer bitkisel ürünlerde (yem bitkileri hariç) içecek ve baharat bitkilerinde %7.7, meyvelerde %14.6 oranında artış olurken; sebzelerde %0.5 oranında azalma gerçekleşmiştir. 2022 yılı verileri incelendiğinde yaklaşık olarak sebzeler 31.6 milyon ton, bitkisel ürün ve tahıllar 70.2 milyon ton ve baharat ve içecek bitkileri 26.8 milyon ton olarak tespit edilmiştir. Yine 2022 yılı sebze ürünleri üretim miktarı 2021 yılına göre %0.5 miktarında azalış göstererek 31.6 milyon ton olarak belirlenmiştir. Sebzelerde ki üretim miktarları domates (%0.7), kuru soğan (%6) ve karpuz (%0.7) oranında azalma gösterirken salçalık kapa biber %2.5), havuç (%33.5) ve hıyar (%2.6) oranında artış gözlemlenmiştir. (TÜİK, 2022).



Şekil 1.1 Türkiye’de 2021-2022 Yıllarında Yapılan Üretim Miktarları

Ülkemizde ve dünyada pestisit kullanımını azaltmak için bitki ekstraktlarının hastalıklarla mücadelede kullanım olanaklarının belirlenmesine yönelik araştırmalar yapılmakta ve bu konu üzerine ilginin daha da arttığı görülmektedir. Bunun en önemli nedeni ise, bitki ekstraktlarının organik tarımdaki başarısı ve bitki korumada kullanılan kimyasal ilaçların ortaya çıkardığı sorunlardır. Bu sorunlara özellikle son yıllarda yaş meyve-sebze ihracatında, ürünler üzerindeki ilaç kalıntısı yüzünden ihraç edilen ülkeler

ile yaşanan sorunlar örnek verilebilir. Bu kalıntıları azaltmak veya yok etmek için, kimyasal ilaç kullanımının en aza indirilmesi gerekmektedir. Bu sebeple Dünya’da ve Türkiye de kimyasallarla mücadele yöntemlerinin araştırılması ve alternatif yöntemler arayışı hız kazanmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda kimyasal mücadelenin insan ve çevre sağlığı açısından büyük problem yaratmasından dolayı biyo-pestisitlere olan ilgilinin giderek arttığı görülmektedir. Bitkisel kökenli pestisitlerin tarımsal savaşında ümit var sonuçlar elde edilmesiyle birlikte dünyada son yıllarda bitki ekstraktları konusundaki araştırmalar artış göstermiştir. Alternatif bir mücadele yöntemi olan bitkilerden elde edilen özütlerin antifungal etkiye sahip oldukları uzun yıllardır bilinmektedir. Bitki ekstraktı ile yapılan çalışmalar son dönemde kimyasal mücadele yöntemi olarak tercih edilmektedir. Doğada bulunan bitkiler kullanılan kimyasal ilaçlar yerine biyokimyasal yapıda birçok materyali kapsayan etkili bir mücadele yöntemidir (Prakash ve Rao,1996).

Hızla gelişen ve insan yaşamı üzerinde birçok etkisi olan nano teknoloji tarım sektöründe de yerini almaktadır. Nano teknolojik gelişmeler tarımda ilaç kullanımını azaltma, bitki ve hayvan ıslahını geliştirme, bitki kökenli hastalıklarının tedavisi, aynı zamanda hastalıkların teşhisi gibi yeni yaklaşımlarla, gıda ve tarım endüstrisine yeni bir soluk getirme gücüne sahiptir (Türkmen, 2015). Bununla birlikte Nanoteknoloji terim olarak ilk defa 1974 yılında Norio Taniguchi tarafından, “ileri düzey duyarlılıkla mevcut teknolojilerin küçültülmesine dayalı bir teknoloji” olarak tarif etmiştir (Ramsden, 2005). Son zamanlarda ise nano teknolojinin kullanıldığı çalışmalar fazlasıyla yaygın olup, çalışmalarda kullanılabilecek yeni bir metod oluşturmaktadır. Nano teknolojinin yayılmasıyla birlikte gıda sektöründe dikkatinin çekmiş ve birçok üründe kullanılmaya başlanmıştır (Hanks, 2015). Nanoteknoloji, 100 nm’den daha ufak biyolojik ve biyolojik olmayan yapıların yapımı, karakterizasyonu ve işleme üzerinde yoğunlaşmış bir teknolojidir. ‘Nano’ kelime olarak, bir fiziksel büyüklüğün bir milyarda biri anlamına gelmektedir (Çıracı, 2005). Gümüşün nano boyuta indirilmesi, aktivasyonunun arttırarak bakteri, fungus ve virüsler üzerindeki etkinliğini arttırmaktadır. Nano boyutlarda (0-200 nm) gümüşle karşılaşan bakteri, virüs veya mantar hücrelerinin metabolizması bozulmakta ve elektriksel etkileşimle enzimleri etkisiz hale getirerek hücreleri öldürmektedir (Taylan ve ark., 2018).

Nano partikülün birçok çeşidi bulunmaktadır. Bunlar; çinko (Zn), platin (Pt), gümüş (Ag), titanyum (Ti), altın (Au), nanopartikülleridir. Gümüş; antibakteriyel, antifungal ve antiviral özellikleri ile geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ve uzaklaştırıcı olarak yüzyıllardır pek çok alanda güvenle kullanılmaktadır. Bu avantajlar; gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması, gümüşte bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması ve bilindiği üzere düşük derişimde toksik olmamasıdır (Rai ve ark., 2009). Ayrıca Rai ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel özelliğe sahip olduğunu düşünmüştür. Aynı zamanda bazı antifungal ve antiviral etkilere de sahiptir. Bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal iyonlarının da antimikrobiyal özellikte oldukları tespit edilmiştir. Fakat bakterilere, virüslere ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı en iyi etkinliği gümüş göstermektedir (Duncan, 2011).

Nanoteknoloji günümüzde hızla gelişen ve insan yaşamı üzerinde birçok etkisi olan bir alandır. Nanopartiküller (np'ler), optik etki, kuantum boyut etkisi ve yüzey etkisi gibi yeni özelliklere sahip 1-100 nm boyut aralığında atom kümeleridir. Bu özellikler, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlarla etkileşime girmelerini sağlayan şekillerine, morfolojilerine ve boyutlarına bağlıdır. Önemli bir metal olarak, gümüş nanopartiküllerin (agnp'ler) birçok uygulaması vardır: kataliz, elektronik, tıbbi teşhis ve antimikrobiyal aktiviteler ve ayrıca antikoagülan, andiyabetik ve trombolitik gibi başka yeni aktivitelere de sahiptir (Wang ve ark., 2021).

Nanoteknolojik gelişmeler oldukça popüler olup, bilimsel araştırmalar için yeni bir alan oluşturmaktadır. Nano teknolojinin yayılmasıyla birlikte gıda sektöründe dikkatinin çekmiş ve birçok üründe kullanılmaya başlanmıştır (Hanks, 2015). Yine aynı şekilde bitkilerden ve bitkisel kaynaklı ürünlerin antifungal, antibakteriyel, herbisidal, insektisidal ve nematisdal özellikleri birçok çalışmayla belirlenmiştir (Kalkışım, 2012; Mostofa ve ark., 2012; Djeussi ve ark., 2013; Tejeswini ve ark., 2014; Bhagwat ve Datar, 2014; Kashkooli ve Saharkhiz, 2014; Javed ve ark., 2014; Kepenekçi ve Sağlam, 2015). Bununla birlikte bitkilere ait farklı kısımların farklı organik çözücülerle elde edilen ekstraktlarının bitki hastalıklarının gelişimi üzerine *in vitro* ve *in vivo* koşullarda etkinlik

alışmaları yürütülmüştür (Karcioęlu ve ark., 2011; Onaran ve Ylar, 2012; Ylar ve ark., 2014).

Nano gümüş sentezleme yöntemleri arasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler yer alır. Fiziksel veya kimyasal yöntemle, evre üzerinde etkisi olacak veya karmaşık ekipman gerektirecek çok sayıda toksik kimyasal, yüksek basınç ve yüksek sıcaklık gibi aşırı koşullar gerektirir. Bu nedenle, sentez işlemi sırasında nazik teknikler ve toksik olmayan kimyasallar kullanarak agnp'leri sentezlemek için evre dostu bir yöntem geliştirmek gerekmektedir. Son zamanlarda, agnp sentezi için biyomalzemelerin uygulanması araştırmacıların dikkatini çekmiştir, biyomalzemeler arasında bitki, mantar, bakteri ve algler, eklem bacaklıların metabolitleri, enzimler bulunmaktadır (Wang ve ark., 2021).

Son zamanlarda yükselişe geçen nano gümüş teknolojisini bilimde ve teknolojiye yapılan ortak çalışmalarda yeni bir kaynak sağlamaktadır. Nano teknolojiye kullanılan maddelerin alanı çok büyük olup; tıp, sanayi medikal sektörleri ve tarım alanlarında kullanılmaktadır (Koch, 2000).

Gümüş nanopartiküllerini etkileşime giren fungus, virüs ve bakteri hücrelerinin metabolik yapısı değişmekte ve metabolizmaları bozulmaktadır. Buda elektriksel etkileşimle enzimleri iř göremez seviyeye getirerek hücrelerin ölmesine sebep olmaktadır. Sonuç olarak insan vücuduna giren nano partiküller hücreler ile reaksiyona giremediğinden vücuda herhangi bir zarar vermemektedir ve insan hücrelerindeki membran, gümüş iyonunun hücre içerisindeki etkisine mni olmaktadır (Anonim, 2019).

Yapılan bu tez çalışmasında, bazı bitki kısımlarından (yaprak, iek) elde edilen bitki ekstraktlarının nano gümüş partiküllerini ile sentezlenmesi sonucunda hazırlanan bitki ekstraktı solüsyonunun farklı dozları kullanılarak *S. sclerotiorum* etmenine karşı antifungal aktivitesi belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

Ülkemizde ve Dünyada birçok tarım alanında, tükettiğimiz meyve ve sebzelerde ürün kayıplarına sebep olan önemli hastalık etmenleri bulunmaktadır (Yavuz ve Ark., 2022). Bu çalışmada kullanılan patojen *S. sclerotiorum* bu hastalıklardan biridir ve çeşitli bilimsel araştırmalara konu olan nekrotrofik fitopatogen bir fungustur (Otun ve Khayaletu, 2022). *S. sclerotiorum*'un ilk adlandırılması *Peziza sclerotiorum* olarak 1837 yılında Libert tarafından yapılmıştır. Hastalık etmeninin günümüze kadar birçok sınıflandırması yapılmıştır. Fuckel bu patojeni 1870 yılında *Sclerotinia*'ya dahil ederek ismini *S. libertiana* olarak değiştirmiştir. 1884 yılında Bary tarafından “Uluslararası Botanik Adlandırma Kuralları” ile *S. sclerotiorum* olarak adlandırılmıştır. Fakat 1972’de Korf bu patojenin *Whetzelinia* olduğunu ileri sürmüş, buna 1979 yılında Kohn karşı çıkmış ve fungusun adı *Sclerotinia* olarak günümüze kadar gelmiştir (Yanar, 1997).

Çizelge 2.1. *S. sclerotiorum*'un taksonomik sınıflandırması (Melzer ve ark., 1997)

Sınıf	Discomycetes
Takım	Helotiales
Familya	Sclerotiniaceae
Cins	Sclerotinia
Tür	<i>S. sclerotiorum</i> (Lib) de Bary

S. sclerotiorum hastalık etmeni 400'den fazla türden oluşan geniş bir konukçu dağılımına sahiptir ve çok sayıda tarım ürününde hastalık göstermektedir. Patojen ciddi verim kayıplarına neden olmakla birlikte diğer birçok ülke gibi Türkiye’de de kaliteyi düşürmektedir. *Sclerotinia* türünün sclerot adı verilen dayanıklı yapıları sayesinde toprakta ve konukçusunda 8 yıla kadar canlı kalabilmektedir (Kurt ve Ark., 2011). *S. sclerotiorum* (Şekil 2.1) beyaz küf hastalığına neden olan ve %70’e varan verim kayıplarına neden olan bir hastalık etmenidir. Çok geniş konukçu yelpazesine sahip olan bu fungus birçok bitkiyi enfekte etmektedir. Biyolojik kontrol yöntemi bu bitki patojeni ile mücadele edebilmek için etkili bir alternatiftir (Julie ve ark., 2020).



Şekil 2.1. *S. sclerotiorum*'un tarım alanlarındaki görünümü

2.2. Kaldirik (*Trachystemon orientalis*)

Boraginaceae familyasına ait çok yıllık bir bitki türüdür. Bu bitki türü Doğu Bulgaristan, Batı Kafkasya'da ve Türkiye'de Karadeniz bölgesinde yayılım göstermektedir. Kaldirik'in bireyleri 30-40 cm yüksekliğinde, çok yıllık tüylü bir bitkidir (Şekil 2.2). Kök yapısı, rizomlu geniş yapraklı ve mavi-kırmızımsı mor çiçeklidir. Çiçek tomurcukları ve yaprakları olan bitki sapları yaygın olarak Türkiye'nin Karadeniz Bölgesinin farklı şehirlerinde sebze olarak tüketilmektedir. Ayrıca kökleri ve yaprak sapları turşu olarak tüketilmektedir. *T. orientalis* halk arasında farklı isimlerle anılmaktadır. Türkiye de Kaldirik, Kalduruk, Hogan isimleriyle de tanınmaktadır. Türkiye florasındaki kayıtlara göre, *T. orientalis* yaygın olarak 50 ila 1000 m yükseklikte, nemli yoğun ormanlarda yetişmekte ve nehir kenarlarında *T. orientalis*'in rizomları üremesini sağlamaktadır. İnsanlarda idrarı arttırıcı, kan temizleyici ve ateş düşürücü etkisinden dolayı halk arasındaki kullanımı oldukça yoğun görülmektedir. (Onaran ve Yılar, 2012).



Şekil 2.2. Kaldirik Bitkisi Çiçek, Gövde ve Kök Yapısı

2.3. Şerbetçi Otu (*Humulus lupulus*)

Cannabaceae (kendirgiller) familyasından temmuz-eylül ayları arasında yeşilimsi-beyaz renkli çiçekler açan, 2–5 m yüksekliğinde, sarılıcı gövdeli, iki evcikli otsu bir bitki türüdür (Şekil 2.3). Bitki gövdesinin yüzeyi ince sert tırmanmaya yarayan tüylerle örtülüdür. Yapraklar karşılıklı, uzun saplı ve yürek şeklindedir. Yaprakların da üst yüzeyleri sert tüylüdür. Erkek çiçeklerin rengi yeşile yakın sarı ve birleşik salkım durumunda, dişi çiçeklerse yuvarlak kozalaklar halinde bir aradadırlar. Dişi çiçeklerin etrafında brakte ve braktecik denilen geniş, oval taşıyıcı yapraklar ve bunların üzerinde de salgı tüyleri bulunur (Anonim, 2022a).



Şekil 2.3. Şerbetçi Otu Bitkisi (Anonim, 2021)

2.4. Hayıt (*Vitex agnus-castus*)

Hayıt olarak bilinen *Vitex agnus-castus* Akdeniz ülkelerinde yayılım göstermesi ile birlikte Doğu Afrika ve Batı Asya’da da varlığını göstermektedir (Brickell ve Zuk, 1996; Blamey ve Grey-Wilson, 1998). *Vitex agnus-castus*, yapraklarını döken, 3-6 m boyutunda yuvarlak taçlı, dik ve alçaktan dallanan çalı veya ağaçcık formlu, ince orta dokulu bir türdür (Brickell ve Zuk, 1996; Cheifetz ve ark., 1999). Bitkinin aromatik yaprakları geniş biçimde 5-7 parçalı bileşik yapraklardır ve yaprakçıklar tam kenarlı, uzun oval şekilli, sivri uçlu, üst kısmı koyu yeşil renkli, alt yüzleri ise beyazımtırak tüylerle kaplıdır (Blamey ve Grey-Wilson, 1998; Burnie, 2000). Hayıt bitkisinin görünümü Şekil 2.4’te verilmiştir.



Şekil 2.4. Hayıt Bitkisi (Anonim, 2022b)

2.5. Çalışmada Kullanılan Bitki Materyalleri ile Yapılan Çalışmalar

Sacan (2018), bu çalışma kaldırık bitkisinin içeriğinde bulunan toplam fenol ve flavonoidlerin antioksidan aktivitesini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Kaldirik bitkisinin sulu ekstraktının hazırlanması için farklı antioksidanlar kullanmıştır. Gücü azaltma ve radikal süpürme aktivitesi gibi testleri uygulamıştır. Bu testler sonucunda fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda test sonuçlarını doğal ve sentetik antioksidanlarla karşılaştırmıştır. Kaldirik bitkisinin flavonoid, fenolik ve antosiyanin içeriği yararlı bir doğal antioksidan kaynağı olduğunu göstermiştir. Gıda ve kozmetik sektörlerinde diğer yüksek derecede toksik sentetik antioksidanlara alternatif katkı maddesi olarak kaldırık bitkisi kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

2010 yılında Düzce ili Saz köyünden toplanan kaldırık bitkisinin 5 farklı bitki patojeni fungus (*A. rabiei*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-likopersici*, *V. dahliae*, *R. Solani*) üzerinde yapılan çalışmada, bitkinin kök ve çiçek kısmından elde edilen sulu ekstraktlarından en yüksek etkiyi çiçek kısmı göstermiş olup bunu kök kısmı takip etmiştir. Çiçek kısmının sulu ekstraktı bitki patojeni funguslara karşı maksimum aktivite göstermiştir. Bu çalışma ile *T. Orientalis*'in antifungal aktivitesi ilk defa test edilmiştir (Onaran ve Yılar, 2012).

Yılar ve ark., (2014) yapmış olduğu çalışmada Kaldirik bitkisinin (yaprak, çiçek ve kök) ekstraktları %1, %3, %5, %7, %10 ve %20'lik dozlarda *Fusarium acuminatum*, *Fusarium solani* ve *Fusarium oxysporum*'un miselyum gelişimine etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Denemede çiçek, yaprak ve bitki su ekstraktları *F.solani*, *F. acuminatum* ve *F. oxysporum* miselyum gelişimini %20'lik dozda %100 oranında engellemiştir. Kök ekstraktı ise *F.solani*, *F. acuminatum* ve *F. oxysporum* miselyum gelişimini kontrole oranla sırasıyla %0-%12.41, %28.26-%42.27, %32.20-%100 fungus gelişimini engellemiştir.

Svecová ve ark., (2013) *Vitex agnus-castus* metanol ekstraktı, *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında *Pythium ultimum*'a karşı güçlü antifungal aktivite göstermiştir. Domates fidelerinde % 0.2'lik ekstrakt, misel büyümesini engelleyerek *P. ultimum*'a karşı önemli antifungal aktivite göstermiştir. Denemede kullanılan bitki ekstraktı hem domates fidelerine hem de bitki patojeni olan *P. ultimum*'a enjekte edilmiştir. Dört adet PR geninin

(PR-1, PR-2, PR-5, PR-6) göstermiş olduğu etkiler izlenmiştir. PR-1 ve PR-4 genlerine fungus aşılandıktan 12 saat sonra *V. agnus-castus* ekstraktı ilave edilmiştir. 24 saat sonra bitki ekstraktı kaybolmuş ve bitki üzerinde aynı anda uygulanan ekstrakt ve patojenin sinerjistik indükleyici etkisi gözlemlenmiştir. PR-6 geni doğrudan *V. agnus-castus* tarafından aktive edilmemiştir. Ekstrakt ancak patojen ile birlikte uygulandığında 24 saatte gerçekleşmiştir ve gen ekspresyonu 48 saat sonra artmıştır. PR-5 geninin aktivasyonu oluşmamıştır.

Vitex agnus-castus'un yaprak, çiçek ve tohumlarından hidro damıtma yöntemi ile elde ettikleri uçucu yağları antifungal ve antibakteriyel aktivitelerini belirlemek için kullanmışlardır. Çalışmada üç mantar ve sekiz bakteri suşundan yararlanmışlardır. Çiçek yağı sineol, karyofilen, terpinen tohum yağı sineol, sedrelanol ve yaprak yağı izopropenil, dimetiloktahidroin, karboksilik asit, sineol içermektedir. Amerika ve Asya'dan getirdikleri tohumların ve yaprakların uçucu yağları *Klebsiella pneumoniae*'ya karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Yaprak ve çiçek yağında *E. coli*'ye karşı *Pseudomonas aeruginosa* yüksek antifungal aktivite gösterirken bunları takiben *Penicillium expansum*'a karşı *Aspergillus flavus* etki göstermiştir (Habbab ve ark., 2016).

Mizobuchi ve Sato (1984) Şerbetçi otundan (*Humulus lupulus*) elde edilen reçinenin antimikrobiyal aktivitesinin araştırılmasında bazı bileşikler bulunmuştur. Şerbetçi otu reçinesinin bileşenleri *Trichophyton* spp.'nin gelişmesini engellemiştir. Bu çalışmada bitkinin antifungal etkisi ayrı olarak incelenmiştir.

Şerbetçi otu (*Humulus lupulus*) bitkisinin çiçek kısmından hidro alkolik ekstrakt elde edilerek anti-influenza açısından test edilmiştir. Farklı fazlar üzerinde müdahale etme kabiliyeti ve etkinliği araştırılmıştır. Çiçek ekstraktının çeşitli viral suşlarda yüksek oranda etkinlik gösterdiği ölçülmüştür. Çiçek ekstraktı kullanılmadan önce etkinlik oranının kısıtlı olduğunu tespit etmiştir. Sonuç olarak şerbetçi otunun çiçeklerinden elde edilen ekstraktın antiviral ve antioksidan etkinliğinin yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Sotto ve ark., 2018).

Yılar ve ark., (2019) *Humulus lupulus* L. (Şerbetçi otu) bitkisinden elde edilen metanol ve hexan ekstraktlarının *F. oxysporium* ve *S. sclerotiorum* üzerindeki etkisi *in vitro* koşullar altında incelemiştir. 0.1, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozlarda hexan ve metanol

ekstraktlarının funguslara karşı etkinliğini test etmiştir. Yapılan çalışma sonucunda hexan ekstraktının, metanol ekstraktına göre daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan çalışmada; Şerbetçi otu bitkisinden elde edilen Methanol ve n-Hexan ekstraktlarının *in vitro* şartlarda *S. sclerotiorum* ve *F. oxysporum* üzerine antifungal aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

Baynal (2021) Şerbetçi otu bitkisinin su ekstraktı ve biyosentez yoluyla elde edilen magnezyum nanopartiküllerinin antikanser, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi kıyaslanarak değerlendirilmiştir. UV-Visible spektrofotometrede SEM, EDX, FTIR, XRD karakterizasyonu yapılmıştır. Bu çalışmayı takiben antioksidan aktiviteleri test edilmiştir. Şerbetçi otunun flavonoid ve fenolik içerikleri belirlenmiştir ve bileşenleri kıyaslanmıştır. Antimikrobiyal aktivite çalışmasında ise *Staphylococcus aureus* ATCC 35150, *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Klasiella pneumonia* EMCS mikroorganizmalarında etkisi test edilmiştir. Antifungal aktivite etkinliğinin belirlenmesinde magnezyum nanopartikülünün *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 76521 mikroorganizmasında üzerindeki etkinliğine bakılmıştır. A549 akciğer hücre kanser hattında antikanser etkinliği test edilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda antikanser aktivitede şerbetçi otu ve magnezyum nanopartikül uygulamalarında kullanılan dozların kanserli hücreleri engellediği belirlenmiştir. Antioksidan aktivitede magnezyum nanopartikül etkinliğinin yeterli olmadığı saptanmıştır. Antimikrobiyal aktivitede şerbetçi otu ekstraktında en etkili MIC konsantrasyonu 0.039 mg/ml'dir.

Yan ve ark., (2021) bu çalışma 3 farklı araştırmayı kapsamaktadır. Şerbetçi otu etanol ekstraktının *in vitro* koşullarda araştırılması, izopren flavonoid izoksantohumolün *Botrytis cinerea*'ya karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda antifungal aktivitesinin belirlenmesi ve şerbetçi otunun sulu ekstraktının mekanizmasının araştırılması olarak 3 farklı yöntem izlemişlerdir. *In vitro* koşullarda beş farklı fitopatojenik fungusa karşı orta düzeyde etkinlik gösterirken izoksantohumol olan *B. cineria*'ya karşı oldukça yüksek aktivite gösterdiğini saptamışlardır. *In vivo* koşullarda ise koruyucu ve iyileştirici etki gösterdiğini saptamışlardır. Yan ve ark.,'nın yapmış olduğu bu çalışma izoksantohumolün fitopatojenik mantarların kontrol altında tutulması için etkili bir ilaç olarak kullanılabileceğini göz önüne sermiştir.

Katirae ve ark., (2015) *Vitex agnus-castus* bitkisinin yapraklarından elde edilen esansiyel yağının antioksidan ve antifungal aktivitesi test edilmiştir. *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium species* ve *Alternaria spp.*'e karşı güçlü antifungal aktivite göstermişlerdir.

Bu çalışmada ise Asdadi ve ark., (2014)'e göre, *Vitex agnus-castus*'dan elde edilen yağların antifungal aktivitesini test etmişlerdir. Soxhlet aparatı kullanılarak tohumlardan ekstrakt elde etmişler hayıt bitkisinin tohumlarının yüksek oranda yağ içerdiğini, doymamış yağların hayıt tohumunun ana bileşenini oluşturduğunu ve ayrıca yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda *Candida* türlerine karşı sırasıyla 1.75, 7 ve 7 (mg/ml) etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Hayıt bitkisinin yağının ümitvar sonuçlar gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

İçerisinde *Vitex agnus-castus*'unda bulunduğu 18 farklı mısır bitkisi hidrodistilasyon ile izole etmişlerdir. Çalışmada *Agrobacterium tumefaciens* ve *Erwinia carotovora* bakterileri ile *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* ve *Fusarium oxysporum* fungusları kullanılmıştır. Sonuç olarak bakteri türlerinin farklı derecelerde antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. *Artemisia monosperma*'dan elde edilen yağ *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* ve *Fusarium solani*'ye karşı sırasıyla EC50 = 54, 111, 106 ve 148 mg / L oranında en yüksek etkiyi gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Kullanılan bitki yağları fungusların çimlenmesini engellemeye de katkıda bulunmuştur. *F. oxysporum*, *Schinus molle* yağı haricinde diğer yağlara karşı değişken oranlarda engelleyici etki göstermiştir (Badawy ve Abdelgaleil, 2014).

2.6. *S. sclerotiorum* ile Yapılan Çalışmalar

Hafez ve Kabeil (2013) yapmış olduğu çalışmada *Chroococcus dispers* ve *Chlorella vulgaris* bitkilerinden su ekstraktı hazırlanmış ve gümüş nitrat indirgemesi için kullanılmıştır. Ortaya çıkan biyo nano gümüş, elektron mikroskobu altında incelenmiştir. İncelenen nano gümüşlü bitki ekstraktının parçacık boyutunun 25 ile 55 nm arasında değiştiği saptanmıştır. Bakteri suşlarından *Pseudomonas fluorescens*, mantar olarak

Erwinia amylovora, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporium*, *Rhizoctonia solani*, *Helminthosporium* spp., *Alternaria alternata*, *S. sclerotiorum* ile disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibakteriyel antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar yüksek bakteri aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda nano gümüş uygulanan mantarlarda yüksek aktivite göstermiştir ve antibiyotik aktivitesinden 9 kat daha fazla aktivite gösterdiği saptanmıştır.

S. sclerotiorum'un geniş konukçuya sahip olması, Dünya da fazlasıyla yaygın olması sebebiyle kimyasal fungus ilaçlarının kullanımında en önde yer almaktadır. Kinofumelin bu ilaçlardan biridir. Bu çalışmada *in vitro* ve *in vivo* koşullarda kinofumelin ilacının *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivitesi test edilmiştir. Ortalama etki konsantrasyonu (EC50) değerleri 0.0004 ile 0.0059 µg ml⁻¹ arasında değişirken, ortalama EC50 değeri 0.0017 ± 0.0009 µg ml⁻¹ normal olarak değerlendirilmiştir. Kinofumelin haricinde kullanılan ilaçlardan dimetaklon, boscalid veya karbendazim arasında çapraz direnç gözlemlenmiştir. Kinofumelin yapraklar üzerinde *S. sclerotiorum*'a karşı yüksek oranda iyileştirici, koruyucu ve translaminar etki sergilemiştir. Bitki üzerindeki koruyucu etkisi iyileştirici etkisinden daha yüksek olarak gözlemlenmiştir. Sonuç olarak sahada *S. sclerotiorum*'da karbendazim ve dimetaklon direncini yönetmek için kullanılabileceğini ortaya koymuştur (Tao ve ark., 2021).

Türkmen (2019) yapmış olduğu çalışmada mersin (*Myrtus communis* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* M.) ve defne (*Laurus nobilis* L.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağları, mikroemülsiyon formları ve karışımları *S. sclerotiorum*'a karşı *in vitro* ve *in vivo* koşullarda test etmiştir. Uçucu yağdan elde edilen karışımların miselyum gelişimine etkisini belirlemiştir. Sonuç olarak uçucu yağların doz artırımlarına paralel olarak miselyum engelleme oranları da artış göstermiştir. Defne, rezene ve mersin bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar içinde en fazla etkiyi rezene uçucu yağı göstermiştir. *S. sclerotiorum*'un miselyum gelişimini mersinde 2 µg/ml, defnede 1 µg/ml ve rezenede 0.3 µg/ml dozlarında tamamen engellediği tespit edilmiştir. Rezenenin dozunda yapılan artış doğru orantılı olarak antifungal etkiyi de artırmıştır. Mikro emülsiyon formu incelendiğinde uçucu yağlarda olduğu gibi rezene, mersin ve defneden daha etkili olmuştur. Uçucu yağlar, karışımları ve mikro emülsiyon formları *S. sclerotiorum*'a karşı kullanılabileceğini tespit etmiştir.

Onaran ve Yanar (2016) tarafından yapılan çalışmada, *S. sclerotiorum*, *Monilinia fructigena* ve *Alternaria solani*'ye karşı bazı bitki ekstraktlarına ait farklı bitkilerin bölümleri hexan ve metanol bitki ekstraktlarının antifungal etkinlikleri test edilmiştir. Yapılan çalışma neticesinde en fazla etkiyi sırasıyla, *Cornus mas*, *Prunus laurocerasus*, *Morus nigra*, *Morus alba* ve *Ros canina* bitki ekstraktlarında gösterdiği tespit edilmiştir. *Prunus laurocerasus* yaprak ekstraktlarının *M. fructigena* miselyum gelişimine karşı en fazla etki gösterdiği belirlenmiştir.

Boyraz ve Koçak (2006) bu çalışmada *F. oxysporum*, *B. cinerea*, *A. mali*, *S. sclerotiorum* ve *C. circinans*' a karşı nane (*Mentha piperita* L.), kimyon (*Cuminum cyminum* L.), ardıç (*Juniperus communis* L.), zakkum (*Nerium oleander* L.), sarmaşık (*Hedera helix* L.), kekik (*Thymus vulgaris* L.), çörtlük (*Echinophora tenuifolia* L.), ısırgan (*Urtica dioica* L.), okaliptus (*Eucalyptus* sp.), yavşan (*Artemisia* sp.) ekstraktlarının antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstraktlar 0.5 ml, 1 ml ve 2 ml/100 ml dozunda uygulanmıştır. Kekik bitkisinden elde edilen ekstrakt en fazla etkiyi göstermiştir ve tüm fungusların miseliyal gelişimini tamamen engellemiştir. Kimyon bitkisinden elde edilen ekstraktının yüksek dozları fungusların gelişimini tamamen engellerken düşük dozları *A. mali* ve *S. sclerotiorum* ' a karşı düşük antifungal aktivite göstermiştir.

Soylu ve ark., (2007) Kekik (*Origanum syriacum*) ve rezene (*Foeniculum vulgare*) bitkilerinin esansiyal yağlarının *S. sclerotiorum*'a karşı etkileri değerlendirilmiştir. Uçucu yağların hif ve sklerotinin morfolojik yapıları üzerine etkileri ışık ve taramalı elektron mikroskopları altında incelenmiştir. İstila edilmiş topraktaki hastalıklı bitkilerin sayısının azaltılması göz önüne alındığında, kekik ve rezene uçucu yağlarının mümkün olduğunca fitopatojenik mantarlara karşı sentetik fungusitlere alternatif biyo fungusitler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Yılar ve ark., (2019) *Humulus lupulus* L. (Şerbetçi otu) bitkisinden elde edilen metanol ve hexan ekstraktlarının *F. oxysporium* ve *S. sclerotiorum* üzerindeki etkisi *in vitro* koşullar altında incelenmiştir. 0.1, 0.5, 1 ve 2 mg\ml dozlarda hexan ve metanol ekstraktlarının funguslara karşı etkinliği test edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda hexan ekstraktının, metanol ekstraktına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan

çalışmada; Şerbetçi otu bitkisinden elde edilen Methanol ve n-Hexan ekstraktlarının *in vitro* şartlarda *S. sclerotiorum* ve *F. oxysporum* üzerine antifungal aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

2.7. Nano gümüş ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Dura (2022) yapmış olduğu bu çalışma, kök-ur nematodu (*Meloidogyne incognita*) (Tylenchida: Meloidogynidae)'na karşı bazı bitki su ekstraktlarının ve nano gümüş partiküllü (AgNPs) bitki su ekstraktlarının nematisidal etkinliğini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan bitkilerinden elde edilen (su ve nano gümüş katkılı) bitkisel ekstraktların kök ur nematodlarına karşı etkileri araştırılmıştır. Denemeler sonucunda, *Moringa oleifera* ve *Lantana camara*'nın su ekstraktlarının %25 ve nano gümüş partiküllü su ekstraktının 200 ppm konsantrasyonları L2'lere karşı en yüksek etkiyi gösterdiği belirlenmiştir. *M. oleifera* ve *L. camara*'nın bitki su ekstraktlarının %25 ve nano gümüş partiküllü ekstraktlarının 200 ppm konsantrasyonları sırasıyla L2'lere karşı en yüksek ortalama %65.80, %70.70 ve %95.10, %94.10 etkili olarak bulunmuştur. *M. incognita*'nın L2'lerine karşı toksisite çalışmalarında *M. oleifera* ve *L. camara*'nın 200 ppm'lik konsantrasyonu en yüksek etkiyi göstermiştir. İki bitki ekstraktı (*M. oleifera* ve *L. camara*) *M. incognita* ile doğal olarak bulaşık olduğu tespit edilen seralarda denenmiştir. *In vivo* çalışmalarda, nano gümüş partiküllü su ekstraktlarından *M. oleifera* ve *L. camara*'nın etkili olduğu anlaşılmıştır.

Ahluwalia ve ark., (2017) yapmış olduğu çalışmada gümüş nanopartikülleri *Swertia panikulata* bitkisi ile sentezlenmiştir. Bitki özünden elde edilen gümüş nitrat bu çalışmada hem indirgeyici hem kapatıcı ajanlar olarak kullanılmıştır. Daha sonra yapılan analizlerde 31-44 nm arasında boyut aralığına sahip olduğu ve gümüş nanopartiküllerin küre şeklinde olduğu saptanmıştır. Reaksiyon parametrelerinden sıcaklık ve süre sentez reaksiyonunu önemli ölçüde etkilemiştir. Ayrıca sentezlenen nanopartiküller 90 güne kadar sabit kalmıştır. Gram negatif ve gram pozitif bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Sonuç olarak sentezlenen AgNP'lerin standart inkübasyon koşulları altında *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Ediz (2018) tarafından yapılan çalışmada ise *Phaseolus vulgaris* (Yunus-90) L. bitkisinin (yaprak, gövde ve kök) kısımlarından nano teknolojik yöntemle elde edilen partiküllerin yapısal karakterizasyonu uygun yöntemlerden (UV-vis, FT-IR, TEM, SEM ve DLS) faydalanılarak yapılmıştır. Nano partiküller ile yapılan sentez sonucunda antifungal aktivitesinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Nanopartiküllü bitki ekstraktlarından elde edilen solüsyonların düşük dozlarda bile yüksek fungal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Nano partiküllü bitki ekstraktlarının göstermiş olduğu etkinlik göz önünde bulundurulduğunda mücadelede kullanılabilecek değerlere sahip olduğu anlaşılmıştır. Yaprak ekstraktından elde edilen nano gümüş partiküllerinin, diğer ekstraktlardan (gövde ve kök) elde edilen nano gümüş partiküllere oranla daha etkin antifungal aktiviteye sahip olduğu test edilmiştir. Çalışma süresince incelenen *S. sclerotiorum*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum*, *F. incarnatum*, *Colletotrichum* sp., *F. culvarum*, *R. solani*, *F. oxysporum*, *A. alternata*, *S. rolfsii* ve *F. graminearum*, fungal patojenlerinden *F. tricinctum* ve *Colletotrichum* sp. gelişimlerinin engellenmesinde nano gümüş partiküllerin 200 µg/mL konsantrasyonun %100 etkili olduğu belirlenmiştir. Ekonomik açıdan önemli olan tarım ürünlerini fungus türlerinden koruyabilmek için denemede kullanılan bitki ekstraktlarının solüsyon halinde uygulanması olanaklı görülmektedir.

Nartop (2017) yapmış olduğu çalışmada gümüş nanopartiküllerin biyosentezi (yeşil sentez) yapılarak *Pyracantha coccinea* bitkisinin yüzey sterilizasyonunda kullanımı incelenmiştir. *Alkanna tinctoria* (havaciva) köksaplarının sulu ekstraktları gümüş nanopartikül biyosentezinde kullanılmıştır. *In vitro* koşullardaki sterilizasyon başarısı test edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda, yüzeysel sterilizasyon çalışmasında %10'luk NaOCl ve koloidal nano gümüş partikül çözeltisi uygulamasında herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. Sterilizasyon uygulamasında ise 20 dakikalık gümüş nanopartiküller NaOCl ile aynı yüzeysel sterilizasyonu (%53.70) oranında etki göstermiştir.

Kim ve ark., (2008) yapmış olduğu çalışmada gül küllenmesine karşı koloidal nano gümüş solüsyonunun antifungal aktivitesi incelenmiştir. Çift kapsüllü nano gümüş iyonunun fiziksel yöntemi ve stabilizatörler ile hazırlanmıştır. Nano gümüşün çapı yaklaşık 1.5 nm olarak ölçülmüştür. Sulu çözelti içerisinde nano gümüş partikülleri homojenize olarak dağılmıştır. Boyut analizi ve dalga boyu ölçümleri için Transmisyon Elektron Mikroskobu ve UV vis spektrofotometre kullanılmıştır. 5000 ppm konsantrasyondaki

nano gümüş koloidal çözelti, 10 ppm 500 kg içinde seyreltilip ve gül küllemesi ile kirlenmiş 3306 m²'lik alana püskürtülmüştür. Gül küllemesi hastalığı ikinci gününde %95 oranında kaybolmuş ve bir hafta boyunca hastalık tekrarlamamıştır.

Mozayeni ve ark., (2015) yapmış olduğu çalışmada Kalsiyum hidroksit (CH) ve %2 klorheksidin (CHX) nano gümüş jellerin *Candida albicans* üzerindeki antifungal aktivitesi araştırmıştır. Kalsiyum hidroksit (CH) ve %2 klorheksidin (CHX) bakterilere karşı uygun antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve kanal içi tedavi amacıyla kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir. Nano gümüşte Kalsiyum hidroksit (CH) ve %2 klorheksidin (CHX) gibi mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Sonuç olarak CH ve CHX kâğıt üzerinde ve Gates Glidden matkabı ile alınan numunelerde tüm ölçümlerde etkili olduğu tespit edilmiştir. Ancak nano gümüş ile kıyaslandığında nano gümüşün CH ve CHX'den daha etkili olduğu saptanmıştır.

Bu çalışmada civan perçemi (*Achillea millefolium* L.) ve kadife çiçeği (*Tagetes erecta* L.)'nin metanol ekstraktı ve nano partikülerinin *Monilinia laxa*'ya karşı *in vivo* ve *in vitro* koşullar altında test edilmiştir. *In vitro* çalışmada civan perçemi ekstraktında %5'lik dozda %65.5 oranında, yaprak ekstraktında %5'lik dozda ise %56.6 oranında engellediğini tespit etmiştir. Kadife çiçeğinde çiçek ekstraktında %5'lik dozda %37, yaprak ekstraktında ise %10 oranında bir engelleme tespit etmiştir. Nano partikül ile yapılan çalışmada ise 10 mg/ml civan perçemi çiçek ekstraktı %25, yine 10 mg/ml kadife çiçeği çiçek ekstraktı %28 oranında engellemiştir. *In vivo* çalışmada %5, %4'lük dozlarda kadife çiçeği yaprak ve çiçek ekstraktında elma meyvesi üzerinde sırasıyla %28.2 ve %21.8 oranında engellediğini tespit etmiştir. %5, %4'lük dozlarda civan perçemi çiçek ekstraktı %27.1 ve %21 oranında yaprak ekstraktında %34.4 ve %26.8 oranında engellemiştir. Bu çalışmanın sonucunda kadife çiçeği ve civan perçemi bitkilerinden elde edilen nano partiküllerin *M. laxa*'ya karşı biyopestisit olarak kullanma potansiyelinde olabileceği tespit edilmiştir (Kandiş, 2022).

Nano gümüş partikülleri ile yapılan çalışmalar son dönemlerde popüler hale gelmiş olsa da bakteri, virüs ve entomoloji alanındaki geniş araştırmalar funguslar üzerindeki çalışmalar da oldukça sınırlıdır. Yapılacak olan bu çalışmayla ülkemizin florasında doğal olarak yetişen bitkilerin toplanmasıyla, elde edilecek bitki ekstraktlarının farklı organik

çözücüler kullanılarak *S. sclerotiorum* patojenine karşı antifungal aktiviteleri belirlenmiş olacaktır.

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyalleri

Materyal olarak çalışmada kullanılan bitkiler hayıt (*Vitex agnus-castus*), kaldirik (*Trachystemon orientalis*) ve şerbetçi otu (*Humulus lupulus*) Tokat, Antalya ve Ordu illerinden toplanmıştır. *In vivo* çalışma aşamasında kullanılan hıyar meyvesi ticari pazar ve marketlerden eni ve boyu eşit olacak şekilde seçilmiştir. Çalışmada kullanılan bitki materyalleri ve tür özetleri Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan bitki materyalleri

Botanik İsmi	Familyası	Türkçe Adı	Bitki Kısım	Toplandığı Yer
<i>Vitex agnus-castus</i> L.	Verbenaceae	Hayıt	Yaprak, Çiçek	Antalya
<i>Trachystemon orientalis</i> (L.) G.Don	Boraginaceae	Kaldirik	Yaprak, Çiçek	Ordu
<i>Humulus lupulus</i>	Cannabaceae	Şerbetçi Otu	Çiçek	Tokat

3.1.2. Fungus Kültürü

Bu çalışma da kullanılan bitki patojeni fungus *S. sclerotiorum* Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Fitopatoloji laboratuvarlarında bulunan stok kültürden elde edilmiştir. Fungus kültürü, 20 ml potato dextrose agar (PDA) içeren 90 mm petri kaplarında 24±2 °C’de 7 gün geliştirildikten sonra çalışmada kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

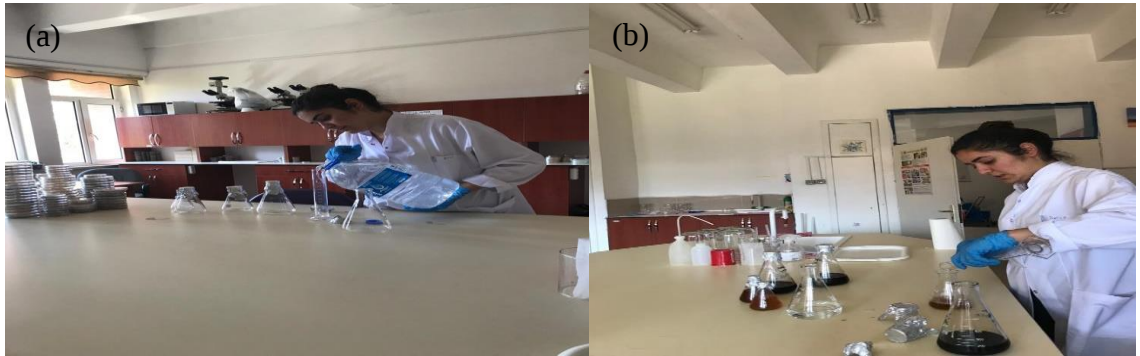
Bu çalışma 3 farklı aşamada yapılmıştır.

- 1) Gümüş partiküllerinin PDA besi yerinde *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivitesinin belirlenmesi,
- 2) Bitki ekstraktları ile hazırlanan solüsyonun *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivitesinin belirlenmesi,
- 3) Nano gümüşlü bitki ekstraktlarının farklı dozlarda *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivitesinin belirlenmesi olarak 3 farklı yöntem uygulanmıştır.

Pozitif kontrol olarak ticari firmanın önerdiği %80 Thiram kullanılmıştır. Negatif kontrol olarak sadece PDA kullanılmıştır. Dozlar %2.5, %5, %10, %20, %50 olarak belirlenmiştir. Ayrıca deneme 3 tekerrürlü ve 2 tekrarlı olarak yapılmıştır.

3.2.1. Gümüş Partiküllerinin Elde Edilmesi

Nano gümüş su ekstraktının hazırlanmasında ilk olarak 99 ml saf su erlen içerisine doldurulmuştur. Üzerine 1 ml seyreltilmiş sıvı nano gümüş eklenerek çalkalayıcıda karıştırılarak toplamda 100 ml homojenize bir karışım elde edilmiştir. Bu uygulama 5(beş) bitki kısmı için ayrı ayrı tekrarlanmıştır. (Şekil 3.1)



Şekil 3.1. Nanopartikül solüsyonunun hazırlanması(a) ve hazırlanan nanopartikül solüsyonu ile bitki ekstraktlarının karıştırılması(b)

3.2.2. Bitki Ekstraktının Elde Edilmesi

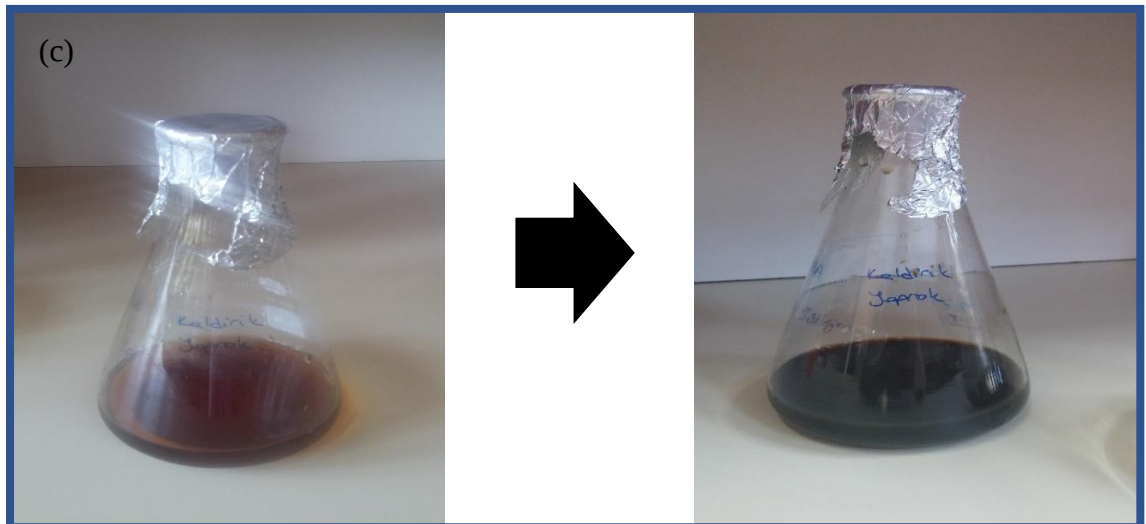
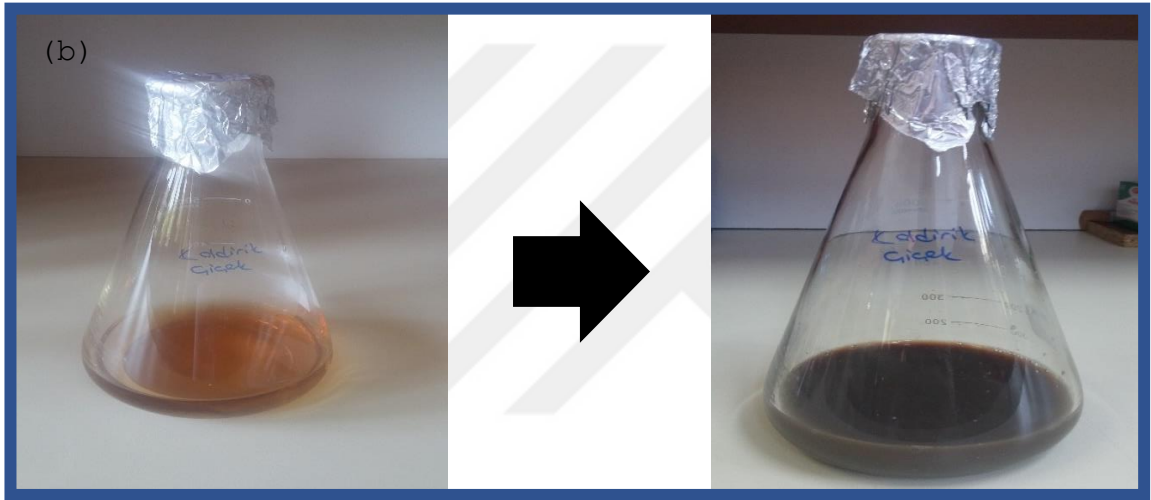
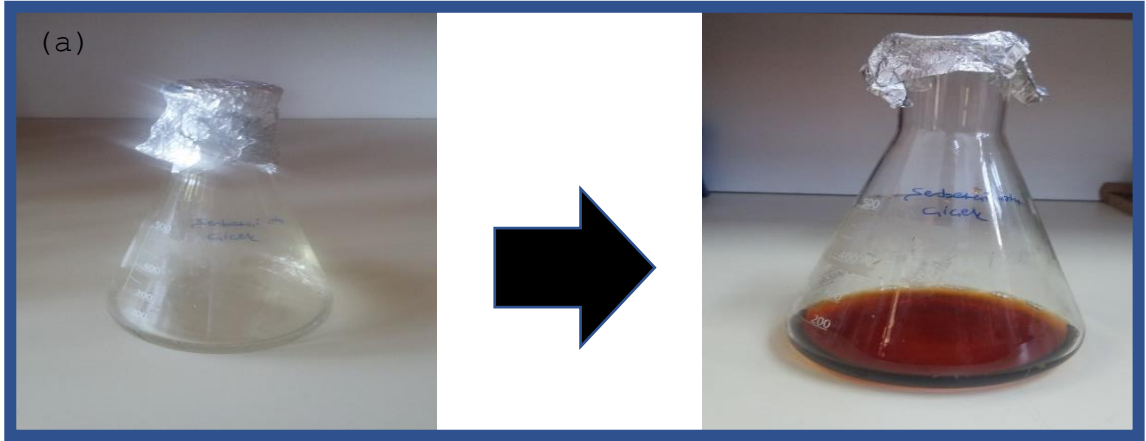
Doğal ortamda kurutularak çiçek ve yaprakları ayrılan bitki materyalleri öğütüldükten sonra her birinden 50'şer gr tartılarak 1000 ml cam kavanozlara doldurulmuştur ve örneklerin üzerini kapatacak kadar 250 ml steril saf su çözücüsü ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltiler, 24 saat oda sıcaklığında orbital çalkalayıcıda 120 rpm de karıştırılmıştır. Daha sonra ekstrakt çözeltileri kaba filtre kağıdından geçirilmiştir (Kalkışım, 2012). Elde edilen çözelti (%20) daha sonra stok olarak kullanılmak üzere koyu renkli şişelere doldurularak buzdolabına (+4) kaldırılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. a) Orbital çalkalayıcı b) Bitki ekstraktının filtre kağıdından geçirilmesi

3.2.3. Şerbetçiotu (*Humulus Lupulus*), Hayıt (*Vitex agnus-castus*) ve Kaldirik (*Trachystemon orientalis*) Su Ekstraktından Nano Gümüş Partiküllerinin Elde Edilmesi

Bitki ekstraktlarının hazırlanmasını takiben her bitki kısmı için hazırladığımız 100 ml seyreltilmiş nano gümüş çözeltisinden 95 ml alınmış ve üzerine 5 ml stok olarak elde edilen bitki ekstraktlarından ilave edilerek nano gümüş katkılı solüsyon hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen bu solüsyon serial difüzyon yöntemine göre seyreltilerek % 2.5, 5, 10, 20, 50'lik dozlar belirlenmiştir. Elde edilen solüsyonlar, erlen içerisinde karıştırıldıktan sonra su banyosunda 15-30 dk bekletilerek nano gümüş partikül oluşumunun bir göstergesi olan renk değişimi takip edilmiştir (Asha, 2016) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Nano gümüşlü bitki ekstraktlarında meydana gelen renk değişimi

Gümüş nanopartiküllerin oluşumu sırasında çözelti içerisinde pH değişimi gözlenmektedir. Bu sebeple, bitki ekstresi ile nano gümüş çözeltisi karışımının pH değerleri dijital pH-metre kullanılarak ilk karışım anında ve 24 saat sonra kaydedilmiştir. Ölçülen pH değeri fungus gelişimini engelleyici düzeyde olması sebebiyle pH değeri uygun şekilde ayarlanmıştır (Çizelge 3.2). Ayrıca 24 saat sonunda gümüş nanopartikül çözeltisinden alınan 5 ml’lik örnek 320-500 nm aralığındaki dalga boylarında UV-Visible spektrofotometrede incelenmiştir. Böylece gümüş nanopartiküllerin UV-Visible absorpsiyon spektrumu belirlenmiştir (Nartop, 2017).



Şekil 3.4. pH Metre

3.2.4. *In vitro* koşullarda bitki ekstraktlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesi

Hazırlanan PDA otoklav edilerek 40 °C’ye kadar soğutulmuştur. Daha sonra, Agar plate difüzyon (Jo ve ark., 2009) yöntemine göre, ekstraktların stok çözeltisinden hazırlanmış olan %2,5, %5, %10, %20 ve %50 dozları PDA ortamına eklenmiştir (Şekil 3.5). Bitki ekstraktı ilave edilmiş (PDA+E)’ler 60 mm çaplı petri kaplarına (10 ml olacak şekilde) aktarılmıştır. PDA+E’lar 12 saat beklenerek daha sonra hastalık etmeni fungusun 5 mm çapında miselyum diskleri petri kapının merkezine ekim yapılmıştır. Fungus kültürü 22±2°C’de inkübasyona tabi tutulmuştur. Negatif kontrolde patojen petri kapını kaplayınca dijital kumpas yardımıyla dikey ve yatay çaplarda ölçümler alınmaya başlanmıştır. Alınan ölçümlerde 1,3,5,7. günler esas alınmıştır.



Şekil 3.5. Bitki ekstraktının PDA ile karıştırılması

3.2.5. *In vitro* koşullarda nano gümüş solüsyonunun *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivitesinin belirlenmesi

Bitki ekstraktlarının antifungal aktivitesini takiben stok olarak kullandığımız nano gümüş çözeltisinden bitki ekstraktında olduğu gibi %2.5, %5, %10, %20 ve %50 dozları PDA ortamına eklenmiştir. Belirlenen dozlarda Nano gümüş ilave edilmiş PDA 60 mm çaplı petri kaplarına (10 ml olacak şekilde) aktarılmıştır. PDA ortamına eklenen nano gümüş çözeltisi 1. 3. 5. ve 7. gün olmak üzere ölçümler alınmıştır.

3.2.6. *In vitro* koşullarda nano gümüş partikülleri ilave edilmiş bitki ekstraktının *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivitesi

Nano gümüşün antifungal aktivitesinin belirlenmesini takiben en etkili dozlar olan şerbetçi otu çiçek, kaldırık çiçek ve kaldırık yaprak, 95 ml nano gümüş çözeltisine 5 ml stok olarak elde ettiğimiz bitki ekstraktlarından ilave edilerek gümüş partiküllü solüsyon hazırlanmıştır. Elde edilen solüsyonlar, erlen içerisinde karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 24 saat bekletilerek nanopartikül oluşumunun bir göstergesi olan renk değişimi takip edilmiştir. Gümüş nanopartiküllerin oluşumu sırasında çözelti içerisinde pH değişimi gözlemlenmiştir. Bu sebeple, sulu ekstresi ile gümüş nitrat çözeltisi karışımının pH değerleri dijital pH-metre kullanılarak ilk karışım anında ve 24 saat sonra kaydedilmiştir. İlk ölçümde 4-5 pH aralığında değerlere sahip olan nano gümüş partiküllü bitki ekstraktı 24 saat sonra yapılan ölçümde daha düşük değerler vermiştir. Son yapılan ölçümle pH değerlerinin fungus gelişimini engelleyici düzeyde olması sebebiyle 6-7 pH aralığında değerlerine ayarlanmıştır (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. İlk ölçüm ve 24 saat sonraki pH ölçüm değerleri

	Hayıt Yaprak	Hayıt Çiçek	Şerbetçiotu Çiçek	Kaldirik Çiçek	Kaldirik Yaprak
İlk Karışım	4.75	4.8	5.44	4.75	5.27
24 Saat Sonra	4.39	4.12	4.56	3.99	4.30
Son Değer	6.37	6.63	6.45	6.53	6.8

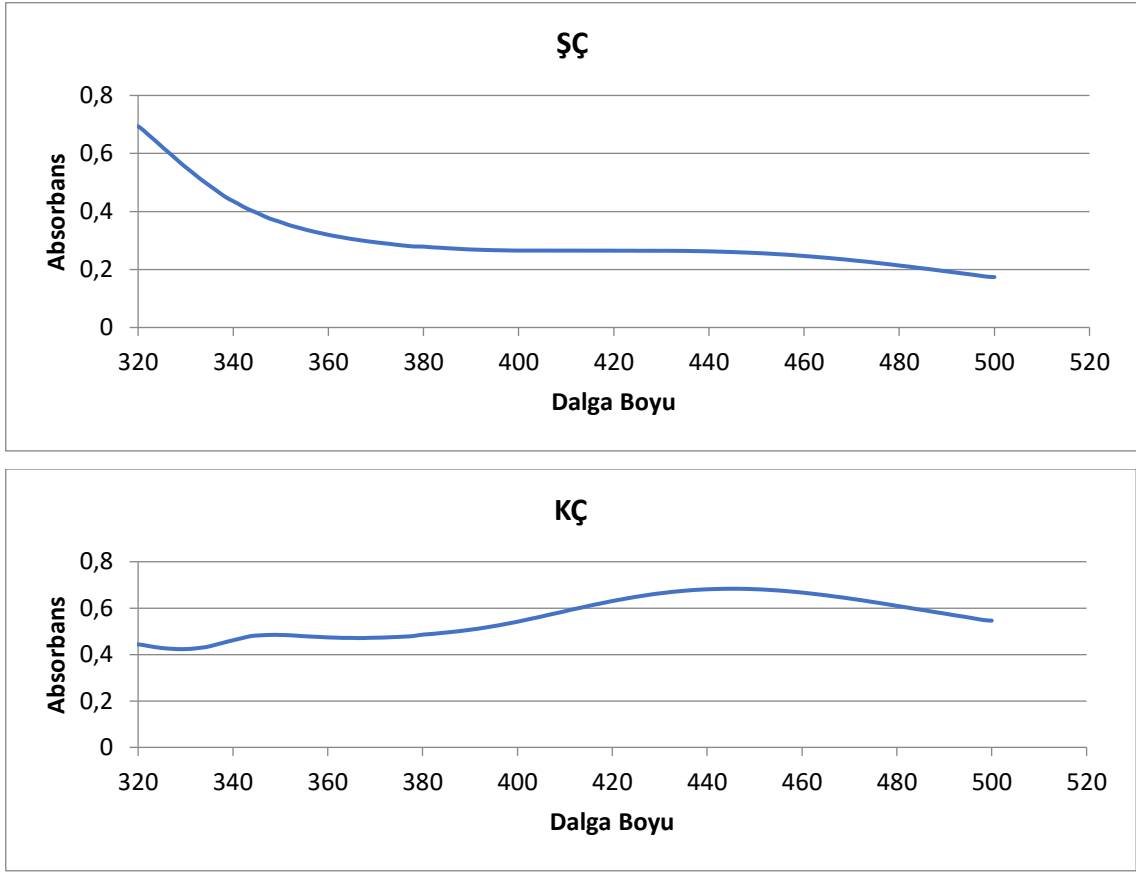
Ayrıca 24 saat sonunda gümüş nanopartikül çözeltisinden alınan 5 ml’lik örnek 320-500 nm aralığındaki dalga boylarında UV-Visible spektrofotometrede incelenmiştir. Böylece gümüş nanopartiküllerin UV-Visible absorpsiyon spektrumu belirlenmiştir.

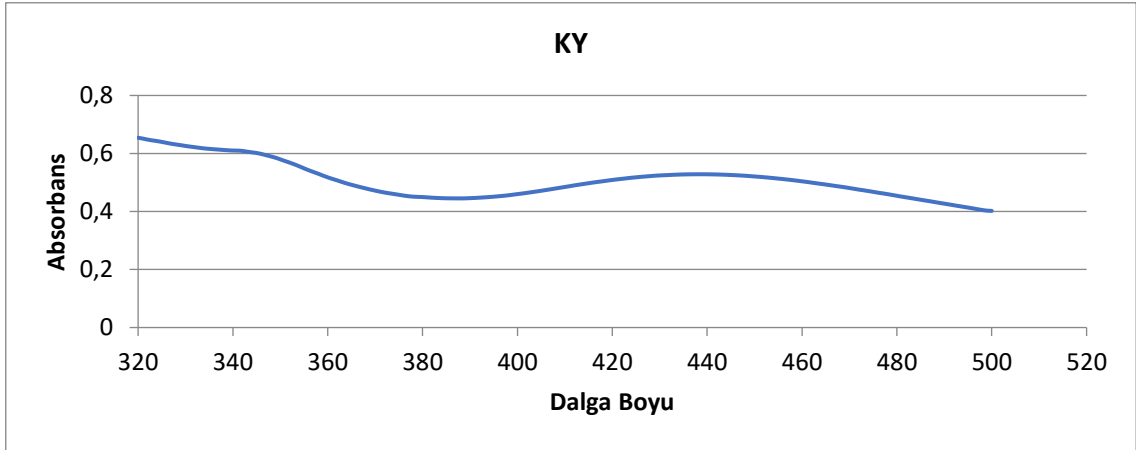


Şekil 3.6. *İn vitro* laboratuvar çalışmaları

UV-Visible Spektrofotometre ile gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu

Kaldirik-çiçek, kaldirik-yaprak ve şerbetçiotu-çiçek ile hazırlanan ekstraktların gümüş nitrat (AgNO_3) çözeltisinin sentezlenmesiyle oluşan gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin UV görünür bölge spektrumları gösterilmiştir. Hazırlanan nano gümüşlü bitki ekstraktlarından 24 saat sonra alınan 5 ml'lik örnekler ile yapılan ölçümler sonucunda dalga boyları 425-470 arasında pik yaptığı belirlenmiştir (Şekil 3.7). 3 bitki kısmı için yapılan ölçümlerde dalga boyları yapılan denemeyi destekler niteliktedir.





Şekil 3.7. da UV-Visible spektrofotometrede nano gümüşlü KÇ, KY ve ŞÇ bitki ekstraktının ölçümleri (KÇ: Kaldirik-çiçek, KY: Kaldirik-yaprak ve ŞÇ: Şerbetçi otu-çiçek)

3.2.7. *In-vivo* koşullarda sulu nano-gümüş bitki ekstraktlarının antifungal etkilerinin belirlenmesi

In-vitro koşulları takiben etkili bulunan bitki ekstraktlı nano-gümüş ekstraktlar *S. sclerotiorum* 'a karşı hıyar (*Cucumi sativus*) meyvesi üzerinde test edilmesi amacıyla tesadüf bloklar deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur (Mohammadi ve ark., 2016). Gerçekleştirilen *in vivo* çalışma için, ticari market ve pazarlardan hıyar meyveleri elde edilmiştir. Aynı boyut, renk ve olgunlaşma aşamasında görünür kusur ve yaralanmalara sahip olmayan hıyar meyveleri seçilmiştir. Meyveler yüzey dezenfektanı için %2 sodyum hipoklorit içine 2 dakika daldırılarak ve musluk suyu ile durulanarak kurumaya bırakılmıştır. Hıyarlara bir mantar delici yardımıyla yaralar açılacak (0.5 cm derinlik ve 1.5 cm çapta, her meyvede 2 yara olacak şekilde) ve her yara içerisine 50 µl'lik ekstrakt çözeltisi pipetle uygulanmış ve damlacıkların meyvenin içine girmesi ve meyve üzerinde gelişim sağlanması için 1 saat beklenmiştir. Daha sonra fungusun 3 mm çapında miselyum diskleri açılan yaraların üzerine yerleştirilmiştir. Negatif kontrol olarak, açılan yaralı bölgeye sadece fungus, sadece nano-gümüşlü süspansiyon uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak ticari olarak satışı yapılan %80 thiram ilacı kullanılmış ve negatif kontrol olarak *S. sclerotiorum* kullanılmıştır. 7 gün sonra meyve üzerindeki lezyon büyüklükleri dijital kumpas ile ölçülmüştür.



Şekil 3.8. Hıyar meyvesi üzerinde uygulanan nano partiküllü bitki ekstraktının *S. sclerotiorum* etkinlik çalışması

3.3. İstatistik Verileri

Çalışma sonucunda elde edilen veriler, SPSS istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan testi ile belirlenmiştir.

4. BULGULAR

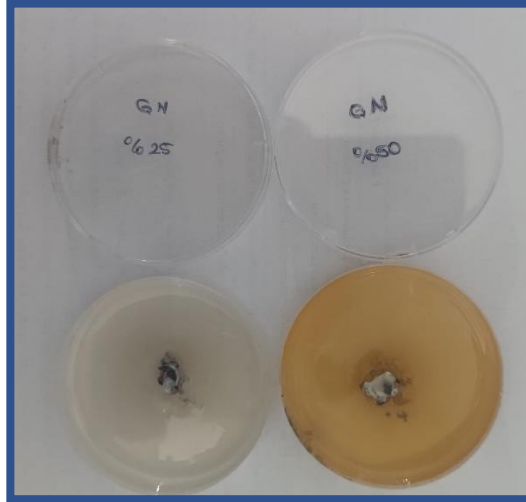
Bu çalışmada, *in vitro* ve *in vivo* koşullar altında hayıt, kaldırık ve şerbetçi otu bitkilerinin farklı kısımlarından elde edilen ekstraktların ve bu ekstraktların nano gümüş partikülleri ile birlikte sentezlenmesinden oluşan solüsyonların *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivite çalışmaları yürütülmüştür.

4.1. *In vitro* Antifungal Çalışma Sonuçları

In vitro koşullar altında yürütülen laboratuvar çalışmasında nano gümüşlü solüsyon, bitki ekstraktı ve nano gümüş katkılı bitki ekstraktının *S. sclerotiorum*' a karşı aktivitesi belirlenmiştir. Deneme üç aşama olarak kurulmuştur.

4.1.1. Nano gümüş partikül solüsyonlu deneme çalışma sonuçları

Nano gümüş partikülleri ile hazırlanan deneme sonucunda elde edilen verilere bakıldığında %2,5, %5, %10, %20, %50 oranlarında en düşük dozda dahi herhangi bir gelişim olmadığı belirlenmiştir. Ancak PDA ortamında havai miselyum gelişimleri gözlemlenmiştir. Elde edilen sonuçlar en yüksek dozda ve en düşük dozda Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. Nano gümüş partiküllü petri çalışmasında %2.5 ve %50'lik dozlardaki gelişmelerinin petri görselleri

4.1.2. Bitki ekstraktının *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivite sonuçları

Çalışmamızda hayıt, kaldirik ve şerbetçi otunun bitki ekstraktlarından elde edilen %2,5, %5, %10, %20, %50 dozlarında *S. sclerotiorum* üzerindeki antifungal aktivitesi belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak ticari bir markanın thiram ilacı kullanılmıştır. Bitki kısımlarından %2.5'luk dozda hayıt-yaprak etki göstermezken diğer bitki kısımları bütün dozlarda etki göstermiştir. Bitki kısımları arasında en fazla etkiyi kaldirik-çiçek gösterirken en az etkiyi ise hayıt-yaprak göstermiştir. En fazla etkiyi kaldirik-çiçek %50'lik dozda %68.27 oranında, en az etkiyi hayıt-yaprak %33.67 oranında göstermiştir. %50'lik dozda kontrol ile kıyaslandığında sırasıyla en fazla etki gösteren kaldirik-çiçek (%68.27), şerbetçi otu-çiçek (%65.54), kaldirik-yaprak (%51.76), hayıt-çiçek (%35.01), hayıt-çiçek (%33.67) olmuştur (Çizelge 4.1). Bitki ekstraktı ile yapılan çalışma sonunda en fazla etki gösteren bitki kısımları nano gümüş katkılı bitki ekstraktı ile yapılacak olan çalışma için seçilmiştir. Buna göre %50 üzerinde etki gösteren kaldirik-çiçek, şerbetçi otu-çiçek ve kaldirik-yaprak ikinci aşama için seçilmiştir.

Çizelge 4.1. Bitki ekstraktının *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivite oranları (%)

Doz (%)	HY	HÇ	KY	KÇ	ŞÇ
0 (kontrol)	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^g	0,00±0,00 ^e
2,5	14,46±2,38 ^d	0,00±0,00 ^d	8,22±1,50 ^e	11,36±4,01 ^f	21,22±3,36 ^d
5	16,50±1,48 ^d	7,59±1,18 ^d	22,21±3,39 ^d	25,50±4,60 ^e	29,86±4,25 ^d
10	21,78±1,44 ^c	20,34±2,23 ^c	34,94±2,45 ^c	40,77±3,50 ^d	47,03±3,64 ^c
20	25,42±2,89 ^c	27,94±4,81 ^{bc}	45,80±3,11 ^b	55,30±2,04 ^c	60,41±2,87 ^b
50	33,67±0,91 ^b	35,01±3,94 ^b	51,76±1,39 ^b	68,27±1,45 ^b	65,54±3,97 ^b
K+(kontrol pozitif)	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak ($p \leq 0.05$) birbirinden farklıdır.

HY: Hayıt-yaprak, HÇ: Hayıt-çiçek, KÇ: Kaldirik-çiçek, KY: Kaldirik-yaprak, ŞÇ: Şerbetçi otu-çiçek

4.1.3. Nanogümüş katkılı bitki ekstraktı ile hazırlanan antifungal aktivite çalışma sonuçları

Çizelge 4.2. Nano gümüşlü bitki ekstraktının *S. sclerotiorum*'a karşı antifungal aktivite oranları (%)

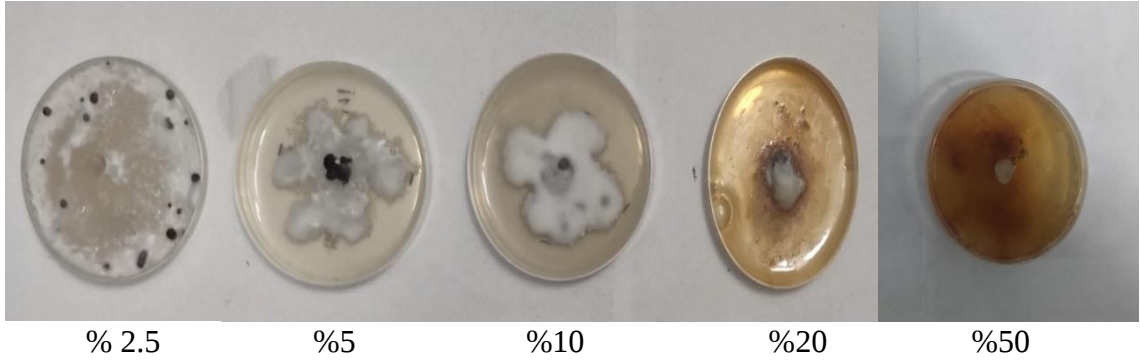
Doz (%)	KY	KÇ	ŞÇ
0 (kontrol)	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^f	0,00±0,00 ^d
2,5	44,49±0,6 ^c	13,58±2,06 ^e	47,80±6,06 ^c
5	51,02±1,17 ^c	54,98±1,01 ^d	54,91±4,32 ^c
10	71,95±4,26 ^b	69,42±1,25 ^c	77,09±2,63 ^b
20	100±0,00 ^a	74,96±0,98 ^b	100±0,00 ^a
50	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a
K+(kontrol pozitif)	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a	100±0,00 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak ($p \leq 0.05$) birbirinden farklıdır.

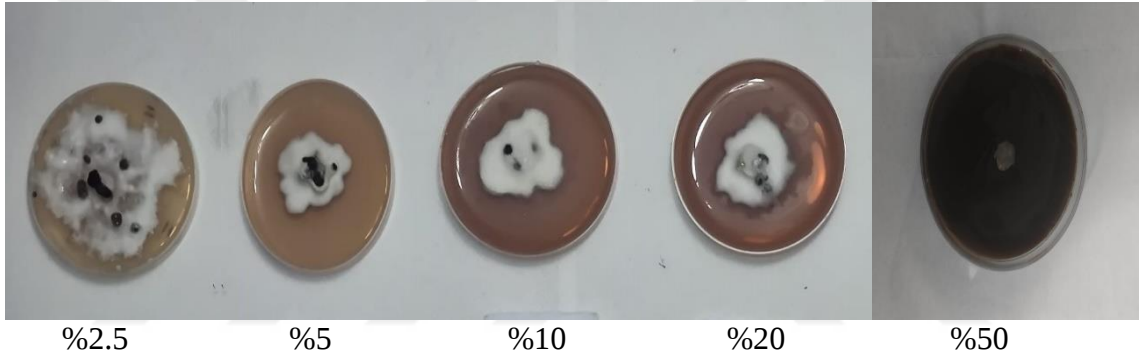
HY: Hayıt-yaprak, HÇ: Hayıt-çiçek, KÇ: Kaldirik-çiçek, KY: Kaldirik-yaprak, ŞÇ: Şerbetçi otu-çiçek

Nano gümüş katkılı bitki ekstraktı ile kurulan deneme sonucunda üç farklı bitki kısmı üzerinden sonuçlar değerlendirilmiştir. %50'lik dozlarda üç bitki kısmında da miselyum gelişimi oluşmamıştır. Üç bitki kısmında da %2.5 'luk doz hariç diğer dozlar %50 üzerinde antifungal aktivite göstermiştir. %20'lik dozda kaldirik-yaprak ve şerbetçi otu-çiçek patojeni %100 engellerken kaldirik-çiçek bitkisi %74,96 engellemiştir (Çizelge 4.2). Deneme sonucunda bitki kısımlarının yüksek oranda antifungal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada ümitvar sonuçlar elde edilmiştir.

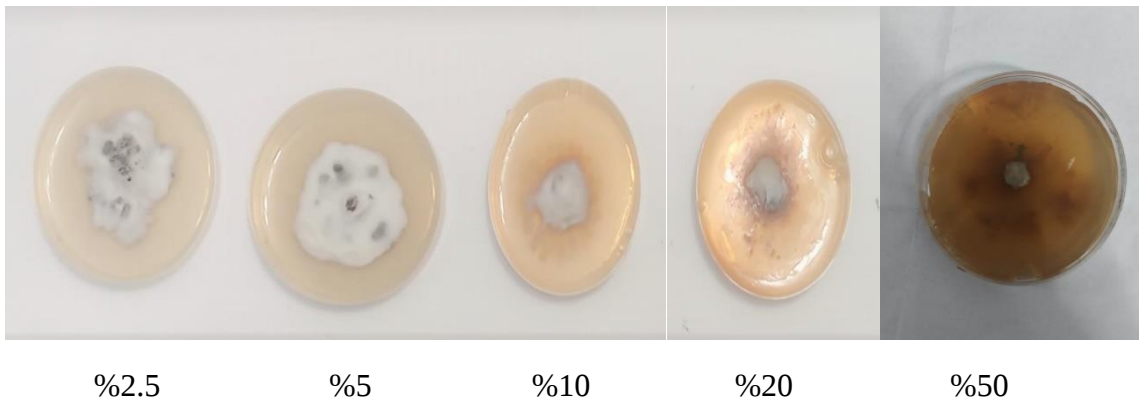
KALDIRIK-YAPRAK



KALDIRIK-ÇİÇEK



ŞERBETÇİ OTU-ÇİÇEK



Şekil 4.2. Nano gümüşlü bitki ekstraktlarının *S. sclerotiorum* üzerindeki miselyum gelişimine etkileri

4.2. *In vivo* Antifungal Aktivite Çalışma Sonuçları

In vitro koşullar altında *S. sclerotiorum*'a karşı etkinliği belirlenen hayıt, şerbetçi otu ve kaldirik bitkilerinden elde edilen ekstraktlardan en yüksek etki gösteren bitki kısımları *in vivo* koşullarda hıyar meyvesi üzerinde uygulamaya alınmıştır. Bu çalışmada üç bitki kısmında yüksek oranda etki gözlemlenmiştir. En etkili kısımlar olan kaldirik-çiçek, kaldirik-yaprak ve şerbetçiotu-çiçek bitkilerinin hıyar bitkisi üzerindeki etkinliği test edilmiştir. *In vivo* koşullarda yürütülen çalışmada 1., 3., 5. ve 7. gün ölçümleri alınmıştır. Ölçümler sonucunda hastalık etmeni olan *S. sclerotiorum* 3. günde hıyar meyvesini tamamen kapladığı gözlemlenmiştir. 7. gün sonunda bütün bitki kısımlarında hıyar meyvesi üzerini tamamen kaplamıştır. *In vivo* koşullarda uygulaması yapılan gözlemler sonucunda düşük antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışma aşamaları Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Hıyar meyvesi üzerinde yapılan çalışma da *S. sclerotiorum* üzerindeki aktivitesi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Uzun yıllar boyunca bitkilerin kök, gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen ekstraktlarla yapılan çalışmalar birçok bitkinin antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Ülkemizde ve Dünyada birçok tarım alanında, tükettiğimiz meyve ve sebzelerde ürün kayıplarına sebep olan önemli hastalık etmenleri bulunmaktadır (Yavuz ve ark., 2022). Bu çalışmada fungal etmen olarak kullanılan *S. sclerotiorum*, bu hastalıklardan biridir ve bilimsel araştırmalara konu olan nekrotrofik bir fitopatojen bir fungustur (Otun ve Khayaletu, 2022). Bahse konu hastalık etmeni 400'den fazla türden oluşan geniş bir konukçu dağılımına sahiptir ve çok sayıda konukçuda etkilidir. Patojen ciddi verim kayıplarına neden olabilmekte ve diğer birçok ülke gibi Türkiye'de de kaliteyi düşürmektedir. *Sclerotinia* dayanıklı yapısı sayesinde toprakta 8 yıla kadar canlı kalabilmektedir (Kurt ve ark., 2011).

S. sclerotiorum'un konukçu olduğu bitkilerden biri de hıyar meyvesidir. *S. sclerotiorum* etmeninin 64 familya, 225 cins ve 361 bitki türünde; baklagillerde ve yem bitkilerinde hastalığa sebebiyet verdiğini belirlemiştir (Purdy, 1979; Pratt, 1993). Hıyar meyvesi üzerinde büyük tahribatlara neden olduğu bilinmektedir. Bitkilerin raf ömrünü uzatmak ve bitkilerde oluşan tahribatı en aza indirmek için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada da *S. sclerotiorum*'un bitkiler üzerinde bırakmış olduğu zararı engellemek veya en aza indirmek için yapılmıştır. Benzer bir çalışmada (Yılar ve ark., 2019) *Humulus lupulus* L. (Şerbetçi otu) bitkisinden elde edilen metanol ve hexan ekstraktlarının *F. oxysporium* ve *S. sclerotiorum* üzerindeki etkisi *in vitro* koşullar altında incelenmiştir. 0.1, 0.5, 1 ve 2 mg/ml dozlarda hexan ve metanol ekstraktlarının funguslara karşı etkinliği test edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda hexan ekstraktı, metanol ekstraktına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada; Şerbetçiotu bitkisinden elde edilen Metanol ve n-Hexan ekstraktlarının *in vitro* şartlarda *S. sclerotiorum* ve *F. oxysporum* üzerine antifungal aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalarda bitki ekstraktlarının tek başına antifungal etkinliğinin düşük olduğu gözlemlenmiştir. Bitki ekstraktı ile yapılan çalışmada en fazla etkiyi KÇ gösterirken en az etkiyi ise HY göstermiştir. En fazla etkiyi KÇ %50'lik dozda

68.27 oranında, en az etkiyi hayıt-yaprak 33.67 oranında göstermiştir. %50'lik dozda negatif kontrol ile kıyaslandığında sırasıyla en fazla etki gösteren kaldirik-çiçek (68.27), şerbetçi otu-çiçek (65.54), kaldirik-yaprak (51.76), hayıt-çiçek (35.01), hayıt-yaprak (33.67) olmuştur. Bitki ekstraktı ile yapılan çalışma sonucunda en fazla etki gösteren bitki kısımları kaldirik-çiçek (68.27), şerbetçi otu-çiçek (65.54), kaldirik-yaprak (51.76) nano gümüş partiküllü bitki ekstraktı ile yapılacak olan deneme için seçilmiştir. Nano gümüş partiküllü bitki ekstraktı hazırlandıktan hemen sonra ve 24 saat olmak üzere pH değerleri ölçülmüştür. 24 saat sonra kaydedilen değerlerin fungus gelişimini engelleyici düzeyde olduğu anlaşıldığından pH değeri fungus gelişimini engellemeyecek şekilde ayarlanmıştır. Kaldirik-yaprak, kaldirik-çiçek ve şerbetçi otu-çiçek bitkileri ile hazırlanan nano gümüşlü ekstraktın in vitro (PDA ortamında) koşullar altında yürütülen çalışmada her üç bitki kısmının da %50'lik dozda %100 antifungal aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. %20'lik dozda ise KÇ(74.96) hariç diğer iki ekstrakt %100 engellemiştir. Aynı zamanda hazırlanan nano gümüş partiküllü bitki ekstraktı UV-Visible Spektrofotometre de ölçümleri alınarak dalga boyu ölçülmüştür. Nano gümüş partiküllü bitki ekstraktı ile hazırlanan çalışma sonucunda 320-500 nm dalga boyu aralığında yapılan ölçümlerde kaldirik-çiçek, kaldirik-yaprak ve şerbetçi otu-çiçek için dalga boyları 425-470 nm aralığında değiştiği kaydedilmiştir.

Hafez ve Kabeil (2013) yapmış olduğu çalışmada yapmış olduğumuz çalışmaya benzer şekilde son zamanlarda nano gümüş önemli bir hale gelmiştir ve nano gümüşlü birçok uygulaması yapılmaktadır. *Chroococcus dispers* ve *Chlorella vulgaris* için su özütü hazırlanıp gümüş nitrat indirgemesi için kullanılmıştır. Ortaya çıkan biyo nano gümüş kullanılarak elektron mikroskobu altında incelenmiştir ve parçacık boyutu 25 ile 55 nm arasında değiştiği saptanmıştır. Bakteri suşlarından *Pseudomonas fluorescens*, mantar olarak *E. amylovora*, *F. solani*, *F. oxysporium*, *R. solani*, *Helminthosporium spp.*, *A. alternata*, *S. sclerotiorum* ile disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibakteriyel antibiyotiklerle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar yüksek bakteri aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda nano gümüş uygulanan funguslarda yüksek aktivite göstermiştir ve antibiyotik aktivitesinden 9 kat daha fazla aktivite göstermiştir.

Yine Svecová ve ark., (2013)'nin yapmış olduğu çalışmada *Vitex agnus-castus* metanol ekstraktı, in vitro ve in vivo koşullar altında *P. ultimum*'a karşı güçlü antifungal aktivite

göstermiştir. Domates fidelerinde % 0.2'lik ekstrakt, misel büyümesini engelleyerek *P. ultimum*'a karşı önemli antifungal sentetik mantar ilacına karşı antifungal aktivite göstermiştir. Denemede kullanılan bitki ekstraktı hem domates fidelerine hemde bitki patojeni olan *P. ultimum*'a enjekte edilmiştir. Dört adet PR geninin (PR-1, PR-2, PR-5, PR-6) göstermiş olduğu etkiler izlenmiştir. PR-1 ve PR-4 genlerine fungus aşılandıktan 12 saat sonra *V. agnus-castus* ekstraktı ilave edilmiştir. 24 saat sonra bitki ekstraktı kaybolmuş ve bitki üzerinde aynı anda uygulanan ekstrakt ve patojenin sinerjistik indükleyici etkisi gözlemlenmiştir. PR-6 geni doğrudan *V. agnus-castus* tarafından aktive edilmemiş ekstrakt ancak patojen ile birlikte uygulandığında 24 saatte gerçekleşmiştir ve gen ekspresyonu 48 saat sonra artmıştır. Buna bağlı olarak PR-5 geninin aktivasyonu oluşmamıştır.

Onaran ve Yanar (2016) tarafından, *S. sclerotiorum*, *M. fructigena* ve *A. solani*'ye karşı bazı bitki ekstraktlarına ait farklı bitkilerin bölümleri hexan ve metanol bitki ekstraktlarının antifungal etkinlikleri test edilmiştir. Yapılan çalışma neticesinde en fazla etkiyi sırasıyla, *C. mas*, *P. laurocerasus*, *M. nigra*, *M. alba* ve *R. canina* bitki ekstraktlarında gösterdiği tespit edilmiştir. *P. laurocerasus* yaprak ekstraktlarının *M. fructigena* miselyum gelişimine karşı en fazla etki gösterdiği belirlenmiştir.

Sonuç olarak Dünya'da ve Türkiye'de önemli ürün kayıplarına neden olan sulu yumuşak çürüklük beyaz küf, gövde çürüklüğü olarak bilinen *S. sclerotiorum* önemli bir fungal hastalıktır. Bu fungal patojen geniş bir konukçu çeşitliliğine sahip olmasının yanında toprakta uzun süre canlılığını sürdürebilmesi mücadelesi bakımından oldukça zordur. Bu hastalıkla mücadele yoğun pestisit kullanımı hem çevreye hem de insan sağlığına olan olumsuz etkileri nedeniyle alternatif mücadele yöntemleri geliştirilmeye çalışılmaktadır. Yapılan bu çalışma ile farklı bitki ekstraktlarında (kaldirik-çiçek, kaldirik-yaprak, şerbetçiotu çiçek, hayıt-yaprak ve hayıt-çiçek) hazırlanan ekstrakt, nano partiküllü ekstrakt ve nano partiküllü bitki ekstraktı olmak üzere üç farklı kombinasyonda antifungal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, bitki ekstraktlarının farklı düzeylerde aktiviteye sahip oldukları gözlemlenmiştir. En etkili ekstraktın nano partiküllü ekstrakt olduğu gözlemlenmiş, bunu ise bitkinin kendi ekstraktı ve nano partikül izlemiştir. Ancak saf nano partiküllü ekstrakta herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. Dünya'da ve Türkiye'de önemli ürün kayıplarına neden olan sulu yumuşak çürüklük

beyaz küf, gövde çürüklüğü olarak bilinen *S. sclerotiorum* alternatif olabilecek farklı uygulamalar yapılmaya ve çalışmalarına devam edilmektedir. Bu çalışmada aynı zamanda *S. sclerotiorum*'a karşı yapılacak alternatif mücadele yöntemlerinin geliştirilmesinde literatüre önemli katkılar sağlayacaktır.



6. KAYNAKLAR

- Aliağaoğlu A., 2019. Tarihsel Süreçte Dünya’da ve Türkiye’de Tarım Coğrafyası Alanındaki Çalışmalar. Coğrafi Bilimler Dergisi/Turkish Journal of Geographical Sciences, 17(2), 367-383.
- Ahluwalia, V., Lumalai, S., Kumar, N., Kumar, ve Sangwan, R., 2017. Nano Silver Particle Synthesis Using *Swertia paniculata* Herbal Extract And Its Antimicrobial Activity. Science Direct. Vol. 114 p. 402-408.
- Anonim, 2019. Nano-gümüş Partikülleri. Online: <https://nanokar.com/blog/makale/NANO-GUMUS-NEDIR-9.html> (15.10.2022).
- Anonim, 2021. Şerbetçiotu nedir, faydaları nelerdir. [https://bizegorelezzetler.com/serbetci-otu-nedir-faydalari-nelerdir-nasil-kullanilir\(15.10.2022\)](https://bizegorelezzetler.com/serbetci-otu-nedir-faydalari-nelerdir-nasil-kullanilir(15.10.2022)).
- Anonim, 2022a. *Humulus lupulus*. Online: https://tr.wikipedia.org/wiki/Humulus_lupulus (15.10.2022).
- Anonim, 2022b. Hayıt bitkisi. <https://www.tohumdunyasi.com.tr/teksas-leylagi-bitkisi-hayit-tohumu-yogun-kokulu-pmu403> (15.10.2022).
- Anonim, 2023. Tarımın Keşfi. <https://tr.khanacademy.org/humanities/world-history/world-history-beginnings/birth-agriculture-neolithic-revolution/a/where-did-agriculture-come-from> (14.01.2023).
- Asdadi, A., Hassani, L.M., Chebli, B., Moutaj, R., Gharby, S., Harhar, H., Salghi, R. ve El Hadek, M., 2014. Chemical Composition and Antifungal Activity of *Vitex agnus-castus* l. Seeds Oil Growing in Morocco. Çevre ve Malzeme Bilimi Dergisi. 5(3), 823-830.
- Asha, A., Sivaranjani, T., Thirunavukkarasu, P. ve Asha, S., 2016. Green Synthesis Of Silver Nanoparticle From Different Plants-a Review. Int J Pure Appl Biosci, 4(2); 118-124.
- Badawy, M., ve Abdelgaleil, S., 2014. Composition And Antimicrobial Activity Of Essential Oils Isolated From Egyptian Plants Against Plant Pathogenic Bacteria And Fungi. Science Direct Degileri. 52, 776-782.
- Baynal, Ö., 2021. *Humulus lupulus* (Şerbetçi Otu) Su Ekstraktı ile Biyolojik (Green) Sentez Yöntemiyle Magnezyum Nanopartikül Sentezi ve Antioksidan, Antimikrobiyal, Antikanser Gibi Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Bingöl Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Bingöl.
- Bhagwat, M.K. ve Datar, A.G., 2014. Antifungal Activity Of Herbal Extracts Against Plant Pathogenic Fungi. Archives Of Phytopathology And Plant Protection. Vol. 47, No. 8,959-965.
- Blamey, M. ve Grey-Wilson, C., 1998. Mediterranean Wild Flowers. Harper Collins Publisher, London, UK, 560 p.
- Brickell, C. ve Zuk, J.D., 1996. A-Z Encyclopedia of Garden Plants. DK Publishing Inc., New York, USA, 1095 p.
- Boyras N., ve Koçak R., (2006). Bazı Bitki Ekstraktlarının *In-vitro* Antifungal Etkileri. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 82-87.
- Cheifetz, A., Double, C., Bernard, L. ve Imwold, D., 1999. Trees and Shrubs. Laurel Glen Publishing, San Diego, USA, 1008 p.
- Direk, M., 2012. Tarım Tarihi ve Deontoloji. Eğitim Yayınları, No:96, 9s. Konya.
- Djeussi, D.E., Noumedern, J.A.K., Seukep, J.A., Fankam, A.G., Voukeng, I.K., Tankeo, S.B., Nkuete, A.H.L., Kuete, V., 2013. Antibacterial Activities of Selected Edible Plant Extracts Against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine. 13:164-172.

- Duncan, T.V., 2011. Applications of Nanotechnology in Food Packaging and Food Safety: Barrier Materials, Antimicrobials And Sensors. J Colloid Interface Sci 363(1): 1-24.
- Dura, O., 2022. Bazı Nanogümüş Partiküllü (Agnps) Bitki Su Ekstraklarının Kök-Ur Nematodu *Meloidogyne Incognita* (Kofoid & White) Chitwood (Nematoda: Meloidogynidae)'ya Karşı *In Vitro* ve *In Vivo* Koşullarda Etkinliğinin Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Ediz, E., 2018. *Phaseolus vulgaris* L.'den Gümüş Nanopartiküllerin Biyosentezi ve Antifungal Etkinliklerinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Habbab, A., Sekkoum, K., Belbouk, N., Cheriti, A. ve Aboul-enein, H., 2016. Essential Oil Chemical Composition of *Vitex agnus-castus* L. from Southern-West Algeria and Its Antimicrobial Activity. Mevcut Biyoaktif Bileşikler Dergisi, 12, 51-60.
- Hafez, E., ve Kabeil, S., 2013. Antimicrobial Activity of Nano-silver Particles Produced by Micro Algae. Journal of pure and applied microbiology, 7, 35-42.
- Hanks, N.A., Caruso, J.A. ve Zhang, P., 2015. Journal of Environmental Management, 164: p. 41-45.
- Javed, S., Javaid, A. ve Shoaib, A., 2014. Herbicidal activity of some medicinal plant extracts against *Partheniumhy siderophores* L. Pak. J. WeedSci. Res., 20(3):279-291.
- Jo, Y.-K., Kim, B. H., ve Jung, G. 2009. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. Plant Dis. 93:1037-1043.
- Kalkışım, Ö., 2012. *In vitro* antifungal evaluation of various plant extracts against walnut anthracnose (*Gnomonia leptospira* (Fr.) Ces et de Not.). J. FoodAgric. Environ. 10 (3-4): 309-313.
- Kandiş, M. F., 2022. *Tagetes erecta* L., *Achillea millefolium* L. ekstrakt ve nanopartiküllerinin *Monilinia laxa*'ya karşı antifungal etkilerinin belirlenmesi. (Yüksek lisans Tezi), Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi. Bitki Koruma Bölümü, Tokat.
- Karacıoğlu, L., Tanis, H., Çömlekcioglu, N., Diraz, E., Kirecçi, E. ve Aygan, A., 2011. Antimicrobial activity of *Salvi atrichoclada* in Southern Turkey. International Journal of Agriculture & Biology, 13, 134-136.
- Kashkooli, A.B. ve Saharkhiz, M.J., 2014. Essential Oil Compositions and Natural Herbicide Activity of Four Denali Thyme Ecotypes. TOP 17(5):859-874.
- Katirae, F., Mahmoudi, R., Tahapour, K., Hamidian, G. ve Emami, S., 2015. Biological Properties of *Vitex agnus-castus* Essential Oil (Phytochemical Component, Antioxidant and Antifungal Activity), Biotech Health Sci.2(2)
- Kaymak, S. ve Serim, A.T., 2015. Pestisit Sektöründe Araştırma ve Geliştirme. Meyve Bilimi Dergisi. 2(1):27-34.
- Kepenekçi, İ., Sağlam, H. D., 2015. Extracts of Some Indigenous Plants Affecting Hatching and Mortality in the Root-Knot Nematode [*Meloidogyn ejavanica* (Treub) Chitwood]. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 25(1):39-44.
- Kim, H., Kang, H., Chu, G. Ve Byun, H., 2008. Antifungal Effectiveness of Nanosilver Colloid Against Rose Powdery Mildew in Greenhouses. Nanocomposites and nanoporous materials VII, No: 135, 15-17 s, Kore.
- Koch. C. C., 2000. Nanostructured Materials Processing, Properties, and Potential Applications. Noyes Publications William Andrew Publishing, New York, USA. 569 p.
- Kurt, Ş., Güneş, U.ve Soylu, E. (2011). *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of synthetic

- pure isothiocyanates against *Sclerotinia sclerotiorum*. society of the Chemical Industry. 67: 869–875.
- Melzer, M. S., Smith E. A. ve Boland G. J. (1997). Index of plant hosts of *Sclerotinia minor*. Journal of Plant Pathology., 19, 272-280.
- Mizobuchi, S., ve Sato, Y., (1984). A New Flavanone with Antifungal Activity Isolated from Hops. Agric. Biol Chem. 2771-2775.
- Mohammadi, A., Hashemi, M. ve Hosseini, S. M. (2016). Integration between chitosan and Zataria multiflora or Cinnamomum zeylanicum essential oil for controlling Phytophthora Drechsler, the causal agent of cucumber fruit rot. LWT-Food Science and Technology, 65, 349-356.
- Mozayeni, M., A., Hadian, A., Bakhtiari, B. Ve Dianat O., 2015. Comparison of Antifungal Activity of 2% Chlorhexidine, Calcium Hydroxide, and Nanosilver gels against *Candida albicans*. Tahrn Tıp Bilimleri Üniversitesi Dış Hekimliği Dergisi, 12(2): 109–117.
- Nartop, P., 2017. “Biyosentetik gümüş nanopartiküllerinin *Pyracantha coccinea* bitkisinin gövde eksplantlarının yüzey sterilizasyonunda kullanımı”, Pamukkale Üniversitesi. Mühendislik Bilim Dergisi, 23, 759-761.
- Mostofa, M., Hossain, H., Hossain, M.A., Biswas, P.K. ve Haque, M.Z., 2012. Insecticidal activity of plant extracts against *Tribolium castaneum* Herbst. Journal of Advanced Scientific Research. 3(3):80-84.
- Wang, D., Xue, B., Wang L., Zhang, Y., Liu, L., ve Zhou, Y., 2021.” Fungus-mediated green synthesis of nanosilver using *Aspergillus sydowii* and its antifungal/ antiproliferative activities” Scientific Reports, 1-9.
- Onaran, A. ve Yılar, M., 2012. Antifungal activity of *Trachystemon orientalis* L. Aqueous extracts against plant pathogens. Tokat. Journal of Food, 287.
- Onaran, A. ve Yanar, Y., 2016. *In vivo* and *in vitro* antifungal activities of five plant extracts against various plant pathogens. egyptian journal of biological pest control, 26(2), 405-411.
- Otun, S., and Khayaletu, N., 2022. Proteomic Analysis Of The Phytogetic Fungus *Sclerotinia sclerotiorum*, Journal of Chromatography B.
- Prakash, A. ve Rao, J., 1996. Botanical Pesticides In Agriculture Crcpresss. Lewis Publishers, 461 pp.
- Pratt, R. G., 1993. *Sclerotinia* Methods for Research on Soil Borne Phytopathogenic Fungi. Press St Paul Minnesota, 74-78.
- Purdy, L. H., 1979. *Sclerotinia sclerotiorum* history, Diseases and Symptomatology. Host Range, Geographic distribution and Impact. Phytopathology, 69: 875- 880.
- Rai, M., Yadav, A., ve Gade, A., 2009. Silver Nanoparticles as A New Generation of Antimicrobials. Biotechnology Advances.27(1):76-83.
- Sacan, Ö., 2018. Kaldirik (*Trachystemon orientalis*) Bitkisinde Bulunan Fenol ve Flavonoid’in Antioksidan Aktivitesi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, 77(2): 70-75.
- Ramsden, J. J., 2005. What is Nanotechnology Department of Advanced Materials. Cranfield Üniversitesi, bedfordshire, Nanotechnology Perceptions 1, 3-17.
- Soylu, S., Yiğitbaş, H., Soylu, E. M., Kurt, Ş., 2007. Kekik ve Rezene Esansiyal Yağlarının *Sclerotinia sclerotiorum* Üzerindeki Antifungal Etkisi. Uluslararası Mikrobiyoloji Dergisi.1021-1024.
- Sotto, A., Checconi, P., Celestino, I., Locatelli, M., Carissimi, S., Angelis, M., Rossi V., Limongi, D., Toniolo, C., Martinoli, L., Giacomo, S., Palamara, A.ve Nencion, L., 2018. Antiviral and Antioxidant Activity of A Hydroalcoholic Extract From *Humulus*

- lupulus* L.. Hindawi publications. 14 p.
- Svecová, E., Proietti, S., Caruso, C., Colla, G., Crinò, P., 2013. Antifungal activity of *Vitex agnus-castus* extract against *Pythium ultimum* in tomato. Elsevier Jurnal. 223-230.
- Tao, X., Zhao, H., Xu, H., Li, Z., Wang, J., Song, X., Zhou, M. Ve Duan, Y., 2021. Antifungal Activity and Biological Characteristics of the Novel Fungicide Quinofumelin Against *Sclerotinia sclerotiorum*. The American Phytopathological Society Plant Disease, 2567-2574, USA.
- Taylan, G., Tulpur, A., Demirural, A. Ve Baykara, T., 2018. Nano Gümüş Emprenye Edilmiş Üç Boyutlu Kumaşlarda Anti-Mikrobiyal Etkinlik. Beykent Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi,12/1.
- Tejeswini, M. G., Sowmya, H.V., Swarnalatha, S.P., Negi, P.S., 2014. Antifungal Activity of Essential Oils and Their Combinations *In vitro* and *In vivo* Conditions. Archives of Phytopathology and Plant Protection. Vol. 47, No. 5, 564-570.
- TÜİK, 2022. [https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504-\(02.01.2023\)](https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504-(02.01.2023))
- Türkmen, M., 2015. Kapsül insektisitler,- <https://www.slideshare.net/turkmen09/kapslinsektisitler> 51833349- (15.01.2023)
- Türkmen, M., 2019. Uçucu Yağ Mikro Emülsiyonlarının Beyaz Küf Hastalığı Etmeni *Sclerotinia Sclerotiorum*'a Karşı *In vitro* Ve *In vivo* Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi. (Doktora Tezi), Hatay Mustafa kemal Üniversitesi. Tarla Bitkileri Bölümü, Hatay.
- Yan, Y., Wu, T., Du, S., Wu, Z., Hu, Y., Zhang, Z., Zhao, W., Yang, C. ve Liu, Y., 2021. The Antifungal Mechanism of Isoxanthohumol from *Humulus lupulus* Linn. International journal of molecular sciences, 22(19), 10853.
- Yanar, Y., 1997. Pathogenesis of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary on Pepper (*Capsicum annum* L.) (Ph.D. Thesis), Ohio State Uni., 136 p.
- Yavuz, A.,Onaran, A.,ve Bayar, Y., 2022. Endemik Serik Armudu (*Pyrus serikensis* Güner & Duman)'Nun Yaprak ve Meyve Ekstraktlarının Bazı Bitki Patojeni Funguslara Karşı Biyofungisidal Aktivitesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 9(2): 256–262.
- Yılar, M., Onaran, A., Belgüzar, S., Yanar, Y., ve Kadioğlu, İ., 2014. *Trachystemon Orientalis* (L.) G. DON (Kaldırık)'In Herbisidal ve Antifungal Potansiyeli. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(4), 19-27.
- Yılar, M., Yılar, Y., ve Onaran, A., 2019. Bazı bitki patojeni funguslara karşı *humulus lupulus* l. bitki ekstraktının antifungal aktivitesi. Bahçe 49 (Özel Sayı 1: II. Uluslararası Tarım Kongresi (UTAK 2019)): 113-118.

7. ÖZGEÇMİŞ

