

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**Gümüş Nanopartikül Uygulaması İle Pamukta
Solgunluk Etmeni *Verticillium Dahliae* Kleb Kontrolü**

Alp ÇOKIŞLEREL

Danışman: Prof. Dr. Lale AKTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı
Biyoloji Yüksek Lisans Programı

İzmir
2019

Alp ÇOKIŞLEREL tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak sunulan “Gümüş Nanopartikül Uygulaması ile Pamukta Solgunluk Etmeni *Verticillium dahliae* kleb Kontrolü” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

Jüri Başkanı

: Prof. Dr. Lale AKTAŞ

Raportör Üye

: Doç. Dr. Tansel YALÇIN

Üye

: Prof. Dr. Bengi ERDAĞ

İmza,



EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “**Gümüş Nanopartikül Uygulamasıyla Pamuk bitkisinde (*Gossypium hirsutum*) solgunluk etmeni *Verticillium dahliae* Kontrolü**” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

31.05.2019

Alp ÇOKİŞLEREL

ÖZET**Gümüş Nanopartikül Uygulaması İle Pamukta Solgunluk
Etmeni *Verticillium Dahliae* Kleb Kontrolü**

ÇOKİŞLEREL, Alp

Yüksek Lisans Tezi Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Lale AKTAŞ

Temmuz 2019, 75 sayfa

Gümüş nanopartiküller (AgNP) birçok mikroorganizmaya karşı antifungal ve antibakterial aktiviteye sahiptir. *Verticillium dahliae* Kleb. pamuğun (*Gossypium hirsutum*) da dahil olduğu 400 den fazla tarım ürünü için oldukça tehlikeli, toprak kaynaklı fungal bir patojendir. Bu çalışmanın amacı, *Verticillium dahliae* Kleb. fitopatojenik fungusu kontrolünde yeşil sentezlenmiş gümüş nanopartikül etkisini araştırmaktır. AgNPlar *Laurus nobilis* yaprak ekstraktları kullanılarak sentezlenmiştir. Yeşil sentezlenmiş gümüş nanopartikülleri UV-VIS spektrofotometre, FT-IR, ve ZETA analiz kullanılarak karakterize edilmiştir. Sonuçlar, nanopartikülün bitki içeriği ile kaplandığını, AgNPlerin ortalama 180 nm boyutunda ve negatif yüklü olduğu göstermiştir. *In vitro* antifungal aktivite testi ile AgNP uygulamasının *Verticillium dahlia* misel büyümesi üzerinde inhibitör etki belirlenmiştir. Serada yetiştirilen pamuk bitkileri üzerinde AgNP etkisi morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelere araştırılmıştır. Elde edilen veriler, fidelere 500 ppm konsantrasyona kadar yapılan AgNP uygulamasının pamukta büyüme, fotosentetik pigment içeriği ve PSII aktivitesi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını belirlemiştir. Ayrıca, AgNP uygulamasının pamuk fidelerinde oksidatif stresi uyarmadığı tespit edilmiştir. Çalışmanın sonuçları, defne yaprak ekstraktları kullanılarak yeşil sentezlenen AgNP'ün, pamukta solgunluk hastalığına neden olan *Verticillium dahlia* fungusu kontrolünde çevre dostu, etkili ve toksik olmayan bir araç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler: Gümüş nanopartikül, *Verticillium dahliae*, pamuk, *Gossypium hirsutum*



ABSTRACT**Application of Silver Nanoparticles for the Control of Cotton
Wilting Disease Factor *Verticillium dahliae* Kleb**

ÇOKIŞLEREL, Alp

MSc. in Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Lale AKTAŞ

July 2019, 75 pages

Silver nanoparticles (AgNP) possess antifungal and antibacterial activity against various microorganisms. *Verticillium dahliae* Kleb. is very dangerous soil borne fungal pathogen on cotton (*Gossypium hirsutum*), which has also harmful effects on more than 400 crops. The present study aimed to evaluate the effects of green synthesized silver nanoparticles (AgNPs) on the control of phytopathogenic fungus *Verticillium dahliae* Kleb. AgNPs were synthesized by green approach by using *Laurus nobilis* leaf extract. Green synthesized silver nanoparticles characterized by using UV-VIS spectrophotometer, FT-IR, and ZETA analysis. The results indicated that the nanoparticles are naturally coated with phytocontent. The average size of AgNPs were determined about 180 nm and also negatively charged (-11 mV). *In vitro* antifungal activity tests showed that AgNP treatments inhibited the mycelium growth of *Verticillium dahliae*. AgNP effects on green house grown cotton seedlings were analysed by morphological, physiological and biochemical parameters. Data showed that AgNP did not cause any adverse affect on growth and photosynthetic pigment contents along with PSII activity of seedlings up to 500 ppm. Moreover, AgNP treatment did not lead oxidative stress on cotton seedlings. Results revealed that green synthesized AgNP by using laurel leaf extracts may serve an eco-friendly, efficient and non-toxic tool to control wilting disease factor *Verticillium dahlia* on cotton.

Key Words: Silver Nanoparticle, *Verticillium dahliae*, cotton, *Gossypium hirsutum*



ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında *Laurus nobilis* (Defne) bitkisinden elde edilen gümüş nanopartilüllerinin pamukta solgunluk etmeni *Verticillium dahliae* fungusuna karşı olan etkisi değerlendirilmiştir.

Yapılan bu çalışmada, herhangi bir mücadele yöntemi bulunmayan bu hastalığa karşı kullanılan gümüş nanopartikülün bu patojen üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Gümüş nanopartikülün *Verticillium dahliae* üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla hem *in vitro* hemde sera denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre biyosentez yöntemiyle elde edilen gümüş nanopartiküllerin bu patojen üzerinde dikkat çekici etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

İÇ KAPAK	ii
KABUL ONAY SAYFASI	iv
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	vi
ÖZET	vii
ABSTRACT	x
ÖNSÖZ.....	xii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
ÇİZELGE DİZİNİ	xviii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xx
1 GİRİŞ.....	1
1.1 Nanoteknoloji Nedir ?	1
1.2 Nanopartiküllerin Sınıflandırılması	2
1.3 Nanopartiküllerin Uygulama Alanları	4
1.4 Nanopartiküllerin Bitkilerde Kullanımı	6
1.5 Nanopartiküllerin Fotosentez Mekanizması Üzerindeki Etkileri	6
1.6 Nanopartiküllerin Pestisit ve Herbisit Olarak Kullanımı	7
1.7 Nanomateryallerin Bitki Büyüme ve Gelişmesindeki Rolü	8
1.8 Nanogübre	9
1.9 Nanopartikül Toksisitesi	9
1.10 Nanopartiküllerin Biyosentezi	10
1.11 Gümüş Nanopartikül	11
1.12 <i>Gossypium hirsutum</i> (Pamuk)	14
1.13 <i>Verticillium dahliae</i> ve Pamuk Bitkisinde Solgunluk Hastalığı	14
2 MATERYAL METOD.....	15
2.1 Materyal	15
2.1.1 Kullanılan Malzemeler	15
2.1.2 Kullanılan Cihazlar	16
2.1.3 Fungus Materyali	16

2.1.4	Bitki Materyali.....	17
2.1.5	Gümüş Nanopartikül Eldesi.....	17
2.2	Yöntemler	17
2.2.1	Bitki Fidelerinin Yetiştirilmesi, Enfeksiyon ve Hasatlarının Yapılması.....	17
2.2.2	Kök- Gövde Uzunluklarının ve Yaş-Kuru Ağırlıkların Ölçülmesi .	17
2.2.3	Gümüş Nanopartikül Sentezi.....	17
2.2.4	Gümüş Nanopartikülün Karakterizasyonu	18
2.2.5	Fotosentetik Verimin Belirlenmesi.....	18
2.2.6	Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi	18
2.2.7	Oksidatif Stress Etkisinin Belirlenmesi	19
2.2.8	<i>In vitro</i> Antimikrobiyal Aktivite Testi.....	20
2.2.9	İstatistiksel Analizler	20
3	BULGULAR	21
3.1	Nanopartikül Karakterizasyonu	21
3.2	Fotosentetik Verim (Fv/Fm) Belirlenmesi	23
3.3	Yaş ve Kuru Ağırlık	24
3.4	Kök ve Gövde Uzunlukları	26
3.5	Fotosentetik Pigment İçeriği Analizleri	28
3.5.1	Klorofil a Miktarı.....	28
3.5.2	Klorofil b Miktarları	29
3.5.3	Total Klorofil Miktarı	30
3.5.4	Karotenoid Miktarı	31
3.5.5	Klorofil a/b Oranları	32
3.6	Hidrojen Peroksit Miktarı	33
3.7	Lipid Peroksidasyonu Miktarı	34
3.8	<i>In vitro</i> Antimikrobiyal Aktivite	36
4	SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	37
	KAYNAKLAR DİZİNİ.....	43
	TEŞEKKÜR	52
	ÖZGEÇMİŞ.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil

Sayfa

Şekil 1.1.1 Nanoteknolojik materyallerin kullanımında artış hızı	2
Şekil 1.2.1 Nanomateryallerin boyutları açısından diğer yapılarla karşılaştırılması.	4
Şekil 1.2.2 Nanopartiküllerin sınıflandırılması ve temel olarak kullanım alanları..	4
Şekil 1.3.1 Nanopartiküllerin genel olarak uygulama alanları	5
Şekil 3.1.1 Sentezlenen AgNP'lerin spektrofotometrik sonuçları.....	21
Şekil 3.1.2 Sentezlenen AgNP'lerin FT-IRsonuçları	22
Şekil 3.1.3 Sentezlenen AgNP'lerin Zeta-sizer sonuçları	22
Şekil 3.2.1 AgNP ve Verticillium dahliae inokülasyonundan 34 gün sonra elde ölçülen Fv/Fm oranları.	24
Şekil 3.3.1 Enfeksiyon sonrası AgNP uygulamasının, deneme grupları üzerinde yaş ve kuru ağırlığa olan etkisi.	25
Şekil 3.4.1 Enfekte olan gruplarda AgNP ve fungusit uygulamasının kök ve gövde uzunluğuna olan etkisi	27
Şekil 3.5.1.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a miktarları.....	28
Şekil 3.5.2.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil b miktarları.....	29
Şekil 3.5.3.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların total klorofil miktarları	30

Şekil 3.5.4.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların karatenoid miktarları.....	31
Şekil 3.5.5.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a/b oranı	32
Şekil 3.6.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların H2O2 miktarları.....	34
Şekil 3.7.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların MDA miktarları	35



ÇİZELGE DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.3.1 Enfeksiyon sonrası AgNP uygulamasının, deneme grupları üzerinde yaş ve kuru ağırlığa olan etkisi	26
Çizelge 3.4.1 Enfekte olan gruplarda AgNP ve fungusit uygulamasının kök ve gövde uzunluğuna olan etkisi	27
Çizelge 3.5.1.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a miktarları.....	29
Çizelge 3.5.2.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil b miktarları.....	30
Çizelge 3.5.3.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların total klorofil miktarları.....	31
Çizelge 3.5.4.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların karatenoid miktarları.....	32
Çizelge 3.5.5.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a/b oranı	33
Çizelge 3.6.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların H ₂ O ₂ miktarları.....	34
Çizelge 3.7.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların MDA miktarları	35



SİMGELER VE KISALTMALAR

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
°C	Santigrat derece
μl	Mikrolitre
μM	Mikromol
μmol	Mikromolar
Ag	Gümüş
AgCl	Gümüş Klorür
AgNP	Gümüş nanopartikülü
AgNO ₃	Gümüş Nitrat
Ag ₂ S	Gümüş Sülfat
Au	Altın
Al	Alüminyum
C	Karbon
Cel	Selülaz
CeO ₂	Seryum dioksit
Ce ₂ O ₃	Seryum oksit
Chla	Klorofil a
Chlb	Klorofil b
cm	Santimetre
CNT	Karbon nanotüp
CPI	Consumer Products Inventory
Cu	Bakır

DNA	Deoksiribonükleik asit
ENP	Tasarlanmış nanopartikül
EPA	Enviornmental Protection Agency
EPS	Ekzopolisakkartiler
E.Ü.	Ege Üniversitesi
Fe	Demir
FT-IR	Fourier Transformation Infrared Spectroscopy
g	Gram
h	Saat
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
KH ₂ PO ₄	Potasyum fosfat
KI	Potasyum iyodür
L	Litre
LSD	En küçük anlamlı farklar testi
M	Molar
MBC	Minimum Bakteriyasidal Konsantrasyonu
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
MIC	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
ml	Mililitre
mM	Milimolar
Mn	Mangan
mV	Milivolt

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
MWCNT	Çok katmanlı karbon nanotüp
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
NP	Nanopartikül
pH	Hidrojen gücü
ppm	Her bir milyondaki partikül sayısı
PS-II	Fotosistem II
RPM	Dakikadaki devir sayısı
SiO ₂	Silisyum dioksit
SWCNT	Tek katmanlı karbon nanotüp
TA	Taze ağırlık
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikloroasetik asit
TG	Test prensibi
TiO ₂	Titanyum dioksit
<i>TÜİK</i>	<i>Türkiye İstatistik Kurumu</i>
v/v	Hacim solüsyon
w/v	Yüzde solüsyon
Zn	Çinko
ZnO	Çinko oksit
ZnONP	Çinko oksit nanopartikülü

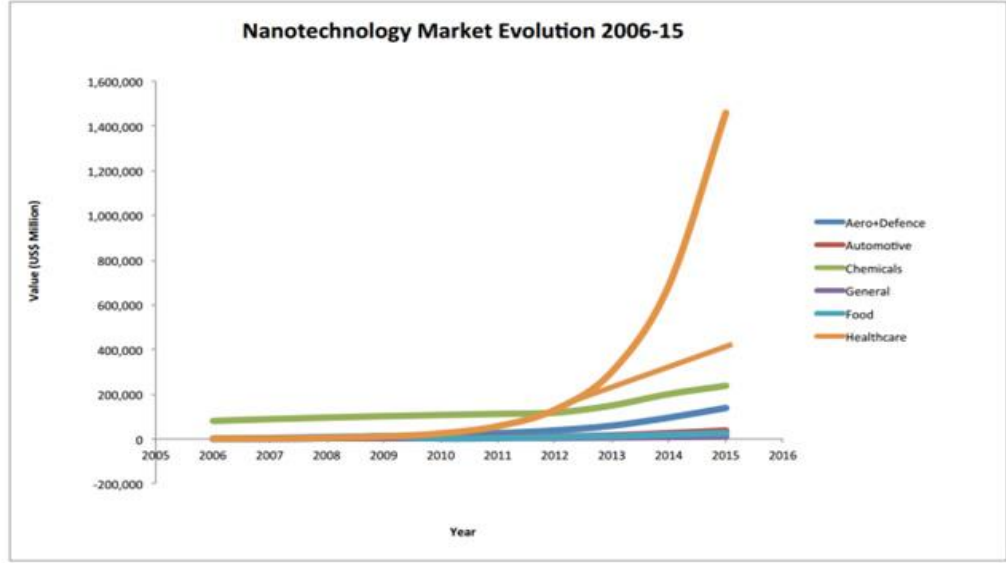


1 GİRİŞ

1.1 Nanoteknoloji Nedir ?

Nanoteknoloji, nano boyutlarda (1-100 nanometre(nm)) üretilen, karakterize ve dizayn edilen, materyaller, araçlar veya sistemlerin bilim veya mühendislik alanlarında kullanılmasıyla ortaya çıkanmış bir kavramdır (Kuzma ve VerHage, 2006). Nanoteknolojinin temelleri Richard Feynman'ın 1959 yılında gerçekleştirdiği bir "There's Plenty Room at the Bottom" adlı konuşma ile atılmıştır. Metrenin milyarda biri ölçekte olan nano boyut, bir saç telinin kalınlığı yaklaşık 100 000 nm boyutunda, bir bakteri hücresi yaklaşık 100 nm boyutunda ve bir su molekülünün ise 1 nm'nin onda biri boyutunda olduğu düşünüldüğünde daha iyi anlaşılabilir.

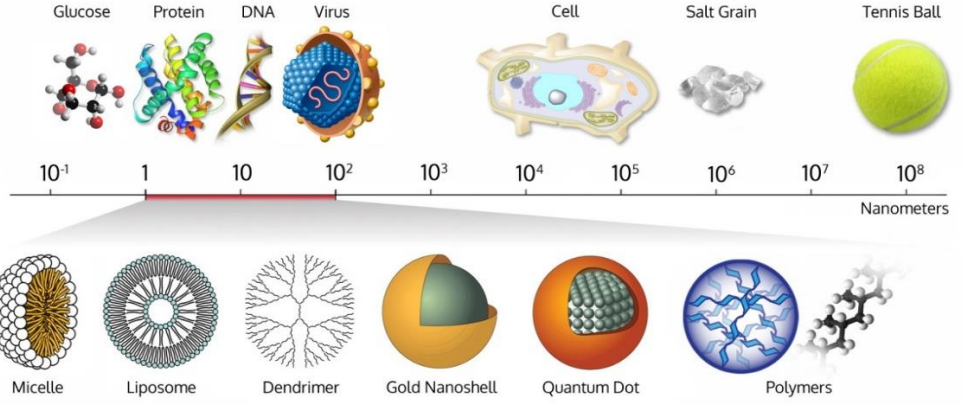
Nanoteknolojinin gelişimi, 1981 yılında Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer'in taramalı tünelleme mikroskopunu geliştirmesiyle devam etmiş ve günümüz nanoteknoloji alanındaki gelişmelerin temelleri atılmıştır. Sonrasında 1985 yılında Rica Üniversitesi araştırmacılarının 60 karbonlu "buckyball" adını verdikleri fullereni keşfi ve ardından 1991 yılında Japon bilim adamı Lijimanın bu karbon grafitten karbon nanotüp elde etmesiyle nanoteknoloji alanındaki gelişmeler hız kazanmıştır. 2005 yılından itibaren, endüstriyel, gıda, sağlık ve kimyasal birçok alanda nanoteknolojik materyallerin kullanımı artmaya başlamıştır (Şekil 1.1) (www.gaeu.com).



Şekil 1.1.1 Nanoteknolojik materyallerin kullanımında artış hızı (www.gaeu.com).

1.2 Nanopartiküllerin Sınıflandırılması

Nanopartiküller veya nanomateryaller metrenin milyarda biri ölçeğe, boyutları 100 nm'den küçük yapılardır. Şekilde (Şekil 1.2.1) nanomateryaller boyutları açısından diğer yapılarla karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. Nanoboyutlardaki materyallerin özellikleri aynı materyalin büyük boyutlardaki özelliklerinden çok daha farklı olabilmektedir. 100 nm'den daha küçük boyutlarda materyallerin fizikokimyasal özelliklerinde büyük ölçüde değişiklik görülebilir; artan yüzey alanı ile daha fazla etkileşim, yüksek çözünübilirlik, biyouyumluluk, biyoalınabilirlik ve esneklik, sertlik gibi fizyolojik avantaj sağlayan birçok benzersiz özelliğe sahip olabilmektedirler (Serrano vd. 2014; Varshney ve Shailender. 2012).



Şekil 1.2.1 Nanomateryallerin boyutları açısından diğer yapılarla karşılaştırılması.

Nanopartiküller özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılabilirler(Şekil 1.2.2.). Temel olarak nanopartiküller:

- **Tek Boyutlu Nanopartiküller;**

Metal oksit nanopartiküller, metalik nanopartiküller

- **İki Boyutlu Nanopartiküller;**

Karbon nanotüpler

- **Üç Boyutlu Nanopartiküller;**

Fullerenler, Quantum dotlar, Polimerik nanopartiküller olarak sınıflandırılabilirler.

Şekil 1.2.2. Nanopartiküllerin sınıflandırılması ve temel olarak kullanım alanları.

Nanomateriyal	Kimyasal kompozisyon	Uygulama alanları
Karbon Nanotüpler(CNTs)	Karbon	Çevre, Tıp, Endüstriyel alanlar (Bitki büyüme oranını artırıcı, enerji depolama, enzim substrat aktivitesi)
Fulleren	Karbon	Tıp (Enzim-substrat)
Metal Oksit nanopartiküller	TiO ₂ , FeO ₂ , CuO, SiO ₂ , CeO ₂	Kozmetik, İnşaat yapı malzemesi, Bitki büyüme maddesi, katalitik, enzimatik aktivite, biyosensör.
Quantum dots (QDs)	Kadmium Selenit (CdSe) Kadmium sulfid (CdS) Kadmium Selenit/Çinko Sulfid (CdSe/ZnS)	Biyomarkır, Biyotanı, medikal görüntüleme.
Metalik nanopartikül Polimerler	Ag, Au, Fe Aljinat, kitosan	Antimikrobiyal aktivite, Biyoremediation, biyomolekül konjugasyonu. İlaç dağıtım ajanı, kapsülasyon, uzun süreli aktivasyon

1.3 Nanopartiküllerin Uygulama Alanları

Günümüz fizik, kimya, biyoloji, materyal bilimi ve biyoteknoloji alanlarındaki gelişmeler, nanoteknolojik alanındaki gelişmeleri beraberinde getirmiş ve birçok yeni nanomateriyal ortaya çıkmıştır. Nanoteknoloji alanında son 20 yılda meydana gelen büyük gelişim ve elde edilen nanomateriyaller, biyoloji, sağlık,

endüstri, gıda gibi birçok pazarda yer bulmaya başlamıştır (Çizelge 1.3.) (Mobasser ve Firoozi, 2016).

Düşük ağırlıklı ancak dayanıklı nanomateriyaller, inşaat ve otomotiv endüstrisinde önemli avantaj sağlamaktadır. Tekstil alanında nanoteknolojinin kullanımıyla hem günlük kullanımı olan kıyafetler hem de spor ekipmanlarının daha uzun ömürlü, gerilmeye dayanıklı, suya karşı daha dirençli olabilme imkanı sunmaktadır. Cep telefonları, LED TV gibi birçok elektronik alet yapımında quantum dotların kullanımıyla daha yüksek görüntü kalitesi alınabilen ekranlar üretmek mümkündür. Kısacası nanomateriyallerin kullanımıyla, kozmetik, endüstri, sağlık, medikal alanlarında birçok yenilik sağlanmış, bu alanlarda yapılan nanoteknolojik araştırmalar büyük hız kazanmıştır.

Şekil 1.3.1 Nanopartiküllerin genel olarak uygulama alanları.



1.4 Nanopartiküllerin Bitkilerde Kullanımı

Nanoteknolojinin hızla gelişmesiyle birlikte ticari olarak kullanılmak üzere 2014 yılı verilerine göre 1800 den fazla nanoteknolojik ürün piyasada bulunmaktadır (Vance et al., 2015). Çevre, sağlık endüstriyel alanların dışında ziraai alanda da birçok nanoteknolojik çalışma yapılmaktadır. Bitkilerde kullanılmak üzere en çok üretilen nanomateriyallerin başında ZnO (çinkooksit), TiO₂ (titanyumdioksit), AuNP (Altın nanopartikül), AgNP (Gümüş nanopartikül), CeO₂ (Seryumoksit) ve CuNP (bakır nanopartikül) gelmektedir (Keller vd. 2013).

Yapılan araştırmalara göre karbon ve metal bazlı nanopartiküllerin bitkiler üzerinde strese ve reaktif oksijen türleri (ROS) oluşumuna ve bitki protein, yağ, karbonhidrat ve DNAsı üzerinde etki yaratabilmektedir. Ancak nano boyutta geniş yüzey alanı, yüksek reaktivite gibi benzersiz fizikokimyasal özelliklere sahip olan nano malzemelerin toksisite konusundaki bilinmezliklerine rağmen, ziraat endüstrisinde, pestisit, herbisit, nanogübre olarak kullanımını görmek ve ziraai alanda yeni uygulamaların keşfedilmesini sağlamak mümkündür (Siddiqui ve Al-Whaibi, 2015).

1.5 Nanopartiküllerin Fotosentez Mekanizması Üzerindeki Etkileri

Günümüzde fotosentez verimini arttırmak amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır (Kirschbaum 2011). Nanobiyoteknoloji alanında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, daha yüksek fotosentez verimine sahip biyotek bir bitki geliştirmek amacıyla bitki kloroplastına karbon nanotüp izole ederek kontrol grubuna oranla 3 kat daha fazla fotosentetik verim elde etmişlerdir. Aynı çalışmada karbon nanotüplerin maximum elektron transfer aktivitesi sağladığı gözlemlenmiş ve bir sinyal molekülü olan nitrik oksite karşı duyarlılığı sağladığı belirlenmiştir (Giraldo vd., 2014). Bir başka çalışmada ise TiO₂ nano partiküllerinin karakteristik olarak fotokatalitik özelliğe sahip olduğu ve böylece ışık absorbansını sağlayıp ışık enerjisini elektirik ve kimyasal enerjiye çevirebildiği ayrıca karbondioksit asimilasyonunu indüklediği gözlemlenmiştir, bunun yanı sıra TiO₂ nanopartiküller kloroplastı uzun süreli olarak yaşlanmaya karşı koruduğu belirlenmiştir (Hong vd., 2005). TiO₂ nanopartikülleri ile yapılan

bir başka çalışmada karbondioksit asimilasyonunu sağlayan RUBISCO enziminin aktivitesini artırdığı belirtilmiştir (Gao vd. 2006). Ma vd. (2008)'de TiO_2 'nin mineral formu olan nanoanatazin karbon reaksiyonu üzerindeki etkisini belirlemek üzere yaptıkları çalışmalarında TiO_2 'nin Rubisco aktivaz mRNA markır genlerini indüklediğini, bunun sonucunda Rubisco karboksilasyon aktivitesini artırdığını belirlemişlerdir. Ayrıca Govorov ve Carmeli (2007), fotosentetik reaksiyon merkezi FotosistemII klorofilin AuNP ve Ag nanokristaller ile bağlanıp 10 kat daha fazla uyarılmış elektron oluşturabildiğini bu sayede fotosentetik sistemlerde kimyasal enerji oluşumunun metal nanopartiküller tarafından arttırılabildiğini gözlemlemişlerdir.

1.6 Nanopartiküllerin Pestisit ve Herbisit Olarak Kullanımı

Tarımsal üretimin, tüm dünyadaki en büyük sorunlarından birisi bitki zararlıları ve patojenlerdir. Bitki zararlıları ve patojenlere karşı mücadelede kullanılan en yaygın yöntemler; pestisit, herbisit, antibiyotik uygulamaları ve dayanıklı çeşit kullanımıdır. Ancak bitki korumada kullanılan kimyasal ilaçların ekosisteme olan etkisi son yıllarda büyük tartışma konusudur. Ayrıca, kullanılan kimyasal ilaçların ve antibiyotiklerin yıkamayla beraber kısa sürede etkisini kaybetmesi zararlılarla mücadeleyi zorlaştırmakta ve üretim maliyetini arttırmaktadır. Araştırmacılar bu nedenlerle zararlılara karşı mücadelede yeni ve etkin yöntemler arayışı içindedir.

Nanoteknoloji destekli uygulamalar ziraaı üretimde, daha etkili mücadele yöntemleri ve zararlılara karşı koruma sağlayabilme potansiyelindedir. Zararlılara karşı mücadelede kullanılan nanosensör ve nanopestisit, nanoherbisit gibi nanomateryallerin kullanımının yanı sıra nano ölçekteki pestisit ve herbisitlerin akıllı taşıma sistemleriyle doğrudan olarak enzim-substrat ilişkisine benzer şekilde gerçekleştirilen uygulamalarda zararlı mücadelelerinde kullanılmaktadır (Mukal vd. 2009). Ziraaı alanda kullanılan nanoteknolojik ürünlerin sağladığı avantajların başında yüksek biyoalınabilirlik, düşük biyobozunurluk ve daha iyi nüfuz edebilme özellikleri bulunmaktadır (Liu vd. 2006). Bu sayede kullanılan aktif moleküller nano taşıyıcılarla kombine olarak, önlem amaçlı periyodik olarak yapılan kimyasal uygulamalar yerine sadece hedefe yönelik kimyasal ilaç uygulaması gerçekleştirilerek ortaya çıkacak

ekolojik zararın önüne geçilebilir (Gruere vd. 2011). Salamanca-Buentello vd. (2005) ziraai alanda birçok nanoteknolojik uygulamanın önümüzdeki yıllarda pekçok ülkede yerini alacağını tahmin etmektedirler.

1.7 Nanomateriyallerin Bitki Büyüme ve Gelişmesindeki Rolü

Bitkilerle etkileşime giren nanopartiküller, bitki üzerinde birçok fizyolojik ve morfolojik değişikliğe neden olabilirler. Bu etkinin farklılıkları nanopartikülün kimyasal yapısına, büyüklüğüne, nanopartikülün aktivitesine ve en önemlisi de nanopartiküllerin uygulanma konsantrasyonuna bağlıdır (Khodakovskaya vd. 2012). Aynı zamanda nanopartiküllerin etkisi, uygulama yapılan bitkinin türüne göre negatif veya pozitif etki gösterebilmektedir.

Yapılan bir çalışmada domates bitkisi tohumlarına düşük konsantrasyonda SiO_2 nanopartikülü uygulaması yapılmış ve çimlenme oranının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Siddiqui ve Al-Whaibi 2014). Başka bir çalışmada SiO_2 nanopartikülü kullanılarak yapılan denemede, abiyotik stress altındaki *Larix olgensis* bitkisi fidelerine yapılan uygulama sonucunda elde edilen bulgulara göre fidelerin büyümesi ve fide kalitesinin arttığı, bitki boyunun, kök çapının, ana kök uzunluğunun ve fidelerdeki lateral kök sayısının arttığı gözlemlenmiştir (Bao-Shan vd. 2004). de la Rosa vd (2013)'de yaptıkları bir çalışmada salatalık, domates ve yonca bitkisi tohumlarına farklı konsantrasyonlarda ZnO nanopartikül uygulaması yapmışlar ve sonuç olarak ZnO nanopartikülünün yalnız salatalık tohumlarının çimlenmesi üzerinde pozitif etki sağladığını belirtmişlerdir. Jaberzadeh vd. (2013)'de TiO_2 nanopartikülünün su stresi koşullarında buğday bitkisinin büyümesini teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. Nanopartiküllerin bitki büyüme, gelişmesinde ve fotosentez üzerindeki etkileri birçok literatür tarafından desteklenmektedir. Bitki büyüme ve gelişmesinde nanomateriyallerin pozitif etki sağladığını rapor eden çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Ancak, ziraai alanda nanomateriyallerin kullanımının yaygınlaşması, deneme aşamasında olan nanomateriyallerin toksisitesi hakkındaki belirsizliklerin giderilmesiyle birlikte beklenebilir.

1.8 Nanogübre

Toprak verimliliği bitki gelişimi için önemli rol oynamaktadır. Topraktaki sodyum, potasyum, fosfor, azot, sülfür gibi bileşenler bitki gelişimini etkilemekte, aynı zamanda toprak organik materyaller toprak faunası için önemli besin ve enerji kaynağı olmaktadır. Toprağın fizyolojik yapısını korumak ürün verimini arttırması için zorunludur. Kullanılan kimyasal gübreler kısa vadede gözlemlendiğinde ürün verimini arttırmakta ancak uzun süreli bilinçsiz kimyasal gübreleme toprağın mineral dengesini bozmaktadır dolayısıyla, toprak faunasını, mineral dengesini, toprak yapısını, topraktaki mikrobiyaya ve bitkileri dolayısıyla ekosistemi etkileyebilmektedir (Six vd. 2002).

Nanoteknolojinin son yirmi yıldaki gelişimi ve ziraa alanda kullanımıyla beraber nanogübre kavramı ortaya çıkmıştır. Nanoboyuttaki gübrelerin bitkiler tarafından alınımının daha kolay olduğu ve besin kaybının azaldığı bildirilmiştir. Bunun yanı sıra nanopartiküller, geniş yüzey alanına, yüksek absorpsiyon kapasitesine ve hedefe yönelik akıllı taşıma özelliğine sahiptirler. Kattegoda vd (2011)'de *Gliricidia sepium* bitkisi ile yaptıkları çalışmada üre ile modifiye edilmiş hidroksiapetit nanopartikülleri kullanılarak toprağa azot salınımının sürekliliği sağlanmış ve sonuç olarak ticari gübre ile karşılaştırıldığında nanogübrenin uygulama gününden itibaren 60 gün daha yavaş şekilde toprakta serbest kaldığı gözlemlenmiştir. Nanokompozit formdaki N, P, K mineralleri, mikronutrientler, mannoz ve aminoasitlerin tahıl bitkileri tarafından alınımının, kullanılan ticari gübrelere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Jinghua 2004).

1.9 Nanopartikül Toksisitesi

Nanomateryallerin üretimi ve kullanımındaki artış konusu şimdilik sadece pazarla ve ürünlerin tüketimi konusuyla gündemdedir. Bu alandaki hızlı gelişim ve nanomateryallerin tüm dünya çapında hızlı şekilde yayılış göstermeye başlamış olması birçok araştırmacıyı nanomateryallerin yaşayan organizmalarla etkileşimini ve bunun sonucunda ortaya çıkan etkileri araştırmaya sevk etmiştir (Handy vd. 2008; Cullen vd. 2011).

Nanopartikül uygulamalarının farklı ekotosik etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır (Duran vd. 2014). Bugüne kadar yapılmış ve yapılmakta olan çalışmalar göz önüne alındığında, nano boyuttaki partiküllerin küçük boyutlar - yüksek aktivite göstermeleri nedeniyle, bulk (yığın) haldeki materyallere göre daha yüksek toksisiteye neden oldukları ortaya konulmuştur (Brayner vd. 2010). Nanoformdaki yapıların hücre içine hızlı nüfuz edebilme özelliği toksik etkide artışın nedenlerinden biridir. Altın veya gümüşün normal formlarında hareketsiz elementler olmalarına karşın, nanoboyutta yüksek reaktivite özelliği kazanmaktadırlar. Bu durumda herhangi bir organizmanın nano boyuttaki materyallerden birine maruz kalması sonucunda hücrenin vereceği tepki, uygulanan nanopartikülün partikül boyutu, özellikleri ve uygulanan konantrasyona göre değişiklik gösterebilmektedir. Bu faktörler dışında toksisitenin anlaşılabilmesi için yapılacak olan çalışmalarda materyalin neden olduğu tüm etkileşimlerin göz önünde bulundurulmalıdır (Paschoalino vd 2010).

Nanopartiküller doğada iki ana formda bulunmaktadırlar; bunlar immobil ve mobil formlardır. Daha büyük boyutta, fonksiyonelleştirilmiş olarak, kompozit ya da yüzeyleri kaplı olarak -immobil veya serbest halde organizmalarla etkileşime girebilecekleri mobil form. Toksikite konusunda asıl endişe yaratan nokta partiküllerin mobil halidir. Nanopartiküllerin üretimi ve tüketiminde, doğrudan veya besin zinciri yoluyla insanla etkileşimi kaçınılmazdır (Hagens vd. 2007; Mihranyan vd. 2012).

1.10 Nanopartiküllerin Biyosentezi

Nanopartiküllerin benzersiz özelliklerinin keşfedilip, enerji, sağlık, çevre, ziraat gibi alanlarda kullanımının yaygınlaşmasıyla birlikte üretim talebi artmıştır. Nanopartiküllerin fiziksel ve kimyasal sentez yöntemlerinde; yüksek enerji ihtiyacı, yüksek maliyet, uzun sentez süreçleri gibi dezavantajları ve en önemlisi ağır metal birikimiyle beliren kirlilik gibi sebepler, yeni sentez yöntemleri arayışlarına neden olmuştur. Bu bağlamda, kısa süreli sentez aşaması, düşük sentez maaliyeti ve toksik olmayan sentez yöntemi gibi avantajlara sahip biyolojik sentez yöntemi ortaya çıkmıştır. Bu yeni biyosentez kavramıyla mikroorganizmalar ve bitkiler gibi doğal kaynaklar nanopartiküllerin sentezinde

indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak kullanılabilir. Bitki türleri, bakteriler, mantarlar ve mayaların nanopartikül sentezinde kullanılabildiği bilinmektedir (Jo vd. 2015; Singh vd. 2015a; Castro-longoria vd. 2011; Waghmare vd. 2015; Singh vd. 2015b). Doğal ham maddeler arasında sentez için en çok kullanılan ham madde bitkilerdir, yüksek fenolik içeriği sayesinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak kullanılabilir. Bunun yanı sıra kolay depolanabilme, düşük enerji ve kısa zamanda prosesi tamamlayabilme avantajı sayesinde yüksek aktivite ve stabiliteye sahip çevre dostu nanopartiküller üretilmektedir (Logeswari vd. 2013).

1.11 Gümüş Nanopartikül

Gümüş nanopartikül antibakteriyel özelliği nedeniyle tüketicilerin yoğun kullandığı ticari bir üründür (Jiang vd. 2012). Gümüş ya da gümüş iyonları güçlü bakterisidal etkileri nedeniyle mikrobiyal aktiviteyi geniş ölçüde engelleyebilir. Nanogümüş uygulamalarının, bitkilerde hastalıklara neden olan 650'den fazla mikroorganizma türünü engelleyebileceği bildirilmiştir (Shams vd., 2013; Jiang vd. 2012). AgNP'lerin oluşturduğu bu etkilerin mekanizması günümüzde tam anlamıyla açıklanamamıştır (Ma, vd., 2015). Gümüş nanopartikülde dahil olmak üzere birçok nanopartikül su ile oksitlenerek anyonlarla kompleks bir yapı oluşturur ve ağır metale dönüşür (Siddiqui ve Al-Whaibi 2015). Oluşan bu formun önemli ölçüde toksik etkinin sebebi olduğu ileri sürülmektedir.

Bu sonuçlar AgNP'lerin bitki korumada pestisit formülasyonunda kullanılabilme olanaklarını kanıtlar niteliktedir. AgNP kullanımıyla seralarda bitkinin yetiştiği ortamı patojenlerden arındırmak mümkündür. Bu yolla bitkinin patojen istilasından korunması ve hastalıkların yayılması durdurulabilir ve bu süreçte bitki büyümesi ve ürün verimi artırılabilir. Bu konuda yapılan çalışmalar AgNP'lerin patojen kontrolünde kullanımında uygun konsantrasyon belirlenmesinin, bitkide ve besin zinciri yoluyla diğer organizmalarda ağır metal miktarının toksik düzeye ulaşmasının engellenmesinde önemli olduğunu göstermişlerdir.

Vanini, (2013) genç *Eruca sativa* fidelerinin morfolojik ve proteomiks değişimlerini değerlendirmek amacıyla bitkileri farklı konsantrasyonlarda AgNP

ve AgNO_3 ile muamele etmiş ve Ag ve Ag nanopartikülün indüklediği değişimleri incelemiştir. Sonuç olarak ortaya çıkan veriler, AgNP ve AgNO_3 uygulamasının kök uzamasında artış, jacalin ve lesitin protein ailelerinde indüklenme, sistein biosentezinde görevli 2 anahtar enzimde indüklenme, ROS detoksifikasyon yollarında aktivasyonu gibi farklı tepkilere neden olduğunu bildirmiştir. İki tip muamalede de sülfür metabolizmasında ve redoks düzenlemeleriyle ilgili proteinlerde değişiklikler meydana gelmiştir. Sadece AgNP vakuoldeki ve E.R'deki proteinlerin değişimine ve bitki büyümesinde artışa neden olmuş ve sonuç olarak AgNP oksidatif strese ve spesifik hücresel fonksiyonlarda değişime neden olduğu belirlenmiştir. Bu etkilerin sadece Ag iyonlarının yayılmasıyla ilgili değil aynı zamanda boyutlarla da ilişkili olduğu kanısına varılmıştır.

Su bitkileri su ekosisteminin anahtar üyelerinden olup besin zincirinin kontrolünde ve ekosistem sterilizasyonunda önemli bir yeri tutmaktadırlar. AgNP'lerin varlığında ekosistem negatif şekilde etkilenebileceği bilgisi bu konuda çalışmalar yapılmasına neden olmuştur. Yapılan çalışmada 72 saat boyunca belirli konsantrasyonlarda AgNP ve AgNO_3 'e maruz bırakılan *Spirodela polyrrhiza*'nın morfolojik görünümünde büyük değişikliklerin ortaya çıktığı görülmüştür (Jiang vd. 2012). Kontrol grubunda sağlıklı ve yeşil renkli bireyler bulunurken, gümüş ile muamele görmüş gruplarda fitotoksik yaralanmalar ve ciddi şekilde klorozis ortaya çıkmıştır. AgNP muamelesi kök inhibisyonuna neden olurken bunun yanı sıra 0.5mg L^{-1} AgNP ve 1mg L^{-1} AgNO_3 konsantrasyonlarında kök absisyonu ortaya çıkmıştır. 5mg L^{-1} AgNP ve 10mg L^{-1} AgNO_3 konsantrasyonlarında kök absisyonu görülmemiştir.

Fotosentetik pigment ve Fv/Fm oranına bakıldığında 72 saat muamele gören *Spirodela polyrrhiza*'da klorofil a içeriği Ag muamelesi görmüş bütün gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Klorofil a/b oranına bakıldığında ise 5mg L^{-1} AgNP ve 1mg L^{-1} AgNO_3 'den daha yüksek konsantrasyonlarda kontrol grubundan daha düşük klorofil a/b oranı belirlenmiştir. Fotosentetik verime bakıldığında ise 5mg L^{-1} AgNP ve AgNO_3 uygulanmış bitkilerde zamana bağlı olarak fotosentetik verimde azalma ölçülmüştür. AgNP konsantrasyonu 0.5 mg L^{-1} konsantrasyona ulaştığında

klorofil a içeriğinin önemli derecede azaldığı ve 5mg Ag L^{-1} AgNP ve 1mg AgNO₃ muamelelerinde klorofil a/b oranının düştüğü gözlemlenmiştir. Bu verilere dayanarak klorofil a'nın AgNP'ye daha hassas olduğu sonucu ortaya çıkartılabilir

Lemna gibba türü üzerinde yapılan bir çalışmada (Oukorroum vd; 2013) AgNP'nin bu bitki üzerindeki etkisine bakılmıştır. *Lemna gibba* türü sucul ortama iyi uyum sağlamış ve toksik çalışmalara uygun bir türdür. Bu bitki kirleticilerin toksik etkilerine karşı fotosentez mekanizmaları ve biyokütle birikimi açısından son derece hassas bir bitkidir. Yapılan çalışmada 7 farklı konsantrasyondaki AgNP'nin biyoakümüasyonu sonucu bitkide oksidatif stress ortaya çıktığı belirlenmiştir. Böylece AgNP'nin sucul ortamdaki birikimi su mercimeklerinin yaşayabilirliği için bir risk ve potansiyel bir toksisite kaynağı olabileceği rapor edilmiştir. 7 gün boyunca AgNP'ye maruz bırakılan *L. gibba* bitkilerinde büyümenin engellendiği gözlemlenmiştir. 1mg ve 10mg L^{-1} konsantrasyonlarda AgNP'ye maruz bırakılan *L. gibba* bitkisinde kontrol grubuyla kıyaslandığında yapraklarda %40 ve %50 oranında azalma gözlemlenmiştir (Oukorroum vd; 2013).

Christian vd. (2012)'da yaptığı bir çalışmada, AgNP içeren topraklı büyüme ortamında AgNP'nin fitotoksitesi değerlendirilmiştir (Christian vd. 2012). AgNP buğdaylarda doza bağlı olarak sürgün ve kök uzunluğunda azalmaya neden olmuştur. Dahası 2.5mg/kg konsantrasyonda NP'ler kök dallanmasını artırarak bitki biyokütlesine etki etmiştir.

Bu çalışmada da değinilen başka bir nokta yine ise AgNP'lerden yayılan Ag iyonlarının biyotoksositeye büyük etki yapmasıdır. Salınan iyonlar atık sular açısından kontaminasyon potansiyeline sahiptir (Christian vd. 2012). NP'ler ya da iyonları ziraai alanları da kontamine ederek bitki sağlığını etkileyebilir. Bu durumda besin zincirinin etkilenmesi söz konusudur. Yapılan çalışmada AgNP içeren kum matriksinde buğday büyümesinin inhibe olduğu görülmüştür. Doza bağlı olarak sürgün gelişiminin AgNP etkisiyle negatif etkilendiği belirlenmiştir. Önceki çalışmalar ve bu çalışmanın verileri AgNP'lerden salınan iyonların fitotoksosite için büyük bir neden olduğu aynı zamanda AgNP'lerin karakteristik özellikleri boyutları, konsantrasyonlarının, uygulama yönteminin yanı sıra

uygulamanın yapıldığı bitki türüne göre de değiştiğini söylemek mümkündür. AgNP'lerin belirli konsantrasyonlarda tarla ve sera çalışmalarında patojen gelişimini inhibe ettiği ancak bu inhibisyonun yanı sıra fitotoksisite oluşumunun da ürün verimine etki ettiği görülmektedir.

AgNP uygulamalarının yapılan çalışmalarda görüldüğü gibi hem inhibitör hemde gelişimi tetikleyici etkileri olduğu görülmüştür, bu uygulamaların fitotoksik etki mekanizması günümüzde hala tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır.

1.12 *Gossypium hirsutum* (Pamuk)

Dünya ve Türkiye ekonomisinde önemli bir paya sahip olan pamuk lif, yağ ve yem bitkisi olarak tüm dünyada birçok endüstri alanında hammadde olarak kullanılan ticari önemi büyük olan bir bitkidir (Gencer vd., 1998; Nacak, 2004). Ülkemizde Güneydoğu Anadolu, Ege, Çukurova, Antalya olmak üzere 4 ana bölgede toplam 573.000 hektarlık alanda pamuk tarımı yapılmakta ve bu alanlardan toplam 1.000.000 ton lif pamuk üretilmektedir. Ülkemiz yıllık 779.000 ton pamuk üretimiyle bu alanda dünyada 7. sırayı alarak önemli bir yere sahip olmuştur (ICAC, 2016).

1.13 *Verticillium dahliae* ve Pamuk Bitkisinde Solgunluk Hastalığı

Verticillium dahliae ekonomik önemi olan birçok zirai ürün için tehlikeli bir patojendir. Pamuk üretimini tehdit eden hastalık etmenleri arasında *Verticillium dahliae* fungusunun neden olduğu solgunluk hastalığı en önemli hastalık olarak bilinmektedir (Pegg, 1984). *Verticillium dahliae* pamuk dışında 400 civarında bitki türünü enfekte olup solgunluk hastalığına yol açabilmektedir (Joaquim ve Rowe, 1990). Patojen mikroskelrotları sayesinde kullanacağı bir konukçu olmadan uzun yıllar boyunca toprakta canlı kalabildiğinden enfekte ettiği bitkilerde solgunluk hastalığına neden olan bu patojenin kontrolü oldukça zordur (Bruehl, 1987; Griffiths, 1970; Wilhelm, 1955). Hastalık etmeni enfekte olduğu bitkinin köklerinden endodermise nüfuz eder ve transpirasyonla taşınarak ksilem borularını tıkayarak hastalık belirtilerini ortaya çıkarır (Rowe ve Powelson, 2002). Hastalıkla mücadelede ekonomik bir kimyasal yöntem bulunmamaktadır (Wilhelm vd., 1974). Halen bu hastalıkla mücadelede kimyasal kontrol, kültürel

önlemler ve biyolojik kontrol gibi mücadele yöntemleri kullanılmaktadır. Fakat hastalık kontrolünde şimdiye kadar bildirilen en etkili yöntem dayanıklı çeşitlerin kullanımıdır (Wilhelm vd. 1974; Schnathorst ve Cooper, 1975; El-Zik, 1985; Erdoğan vd., 2006). Günümüzde *Verticillium* solgunluğunun dünya çapındaki pamuk üretiminde sebep olduğu yıllık ürün kaybı tahmini olarak 1.5 milyon balya olarak bildirilmektedir (Nemli, 2003). Bu nedenle yeni mücadele yöntemlerinin belirlenmesi son yıllarda önemli araştırma konuları arasındadır (Conway vd., 1983; Sezgin, 1985; Xiao vd., 1998).

Bu tez çalışmasında, pamuk (*Gossypium hirsutum*) bitkisinde solgunluk hastalığına neden olan fungus türü *Verticillium dahliae* Kleb üzerinde gümüş nanopartikülü uygulamasının antifungal etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

2 MATERYAL METOD

2.1 Materyal

2.1.1 Kullanılan Malzemeler

Aseton (Sigma, Germany)

Askorbik asit (Sigma, Germany)

Sodyum Hidroksit (Merck, Germany)

Tiyobarbitürik asit (TBA) (Sigma, Germany)

Trikloroasetik asit (TCA) (Sigma, Germany)

Potasyum fosfat dibasic (Sigma, Germany)

Etanol (Sigma, Germany)

Gümüş Nitrat (Sigma, Germany)

Hidrojen peroksit (Sigma, Germany)

Potasyum iyodid (Sigma, Germany)

Potasyum fosfat mono basic (Sigma, Germany)

Sıvı azot

2.1.2 Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı +4 °C (AEG, Germany)

Derin dondurucu -20 °C (Uğur, Türkiye)

Etüv (Heraeus, France)

Fotosentetik verim analizörü (Hansatech, UK)

FT-IR (Shimadzu, Japan)

Hassas terazi (Gec Avery, Australia)

Manyetik karıştırıcı (Stuarts Scientific, UK)

Mikropipet (Thermo, USA)

Mikroskop (Euromax, Netherland)

pH metre (Jenway, UK)

Soğutmalı santrifüj (Hettich, Germany)

Spektrofotometre (Thermoscientific, UK)

Su banyosu (VWR, USA)

Vorteks (Fisons, UK)

Zeta-sizer (Malvern, UK)

2.1.3 Fungus Materyali

Verticillium dahliae Kleb. izolatu Ege Üniversitesi Biyomühendislik bölümünden temin edilmiştir.

2.1.4 Bitki Materyali

Gossypium hirsutum (pamuk) bitkisi Ege Üniversitesi Biyomühendislik bölümünden tedarik edilmiştir.

2.1.5 Gümüş Nanopartikülü Eldesi

Gümüş nanopartikülleri E.Ü. Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Sitoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda fitosentez yoluyla sentezlenmişlerdir.

2.2 Yöntemler

2.2.1 Bitki Fidelerinin Yetiştirilmesi, Enfeksiyon ve Hasatlarının Yapılması

Bitki tohumları 1 litrelik saksılara, 1:1:1 oranında perlit, kum ve torf karışımından oluşan saksılara 10 tohum olacak şekilde ekilmiştir. Bitkiler, sera koşullarında ortalama sıcaklık 28 °C, %70 nem oranında, 12/12 h (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta her gün sulanarak yetiştirilmişlerdir. Dört yapraklı evreye ulaştıklarında gövde enjeksiyon yöntemiyle 10^7 konsantrasyonda 10µl hacimde *Verticillium dahliae* spor solüsyonu enjeksiyonla gövdeden inoküle edilmiştir. İnokülasyondan 6 saat sonra foliar spreyleme yoluyla AgNP muamelesi uygulanmıştır. 34 günün sonunda deney sonlandırılarak, fotosentetik verim ölçümleri yapıldıktan sonra bitkiler hasat edilmiştir. Hasat sonrası örnekler sıvı azottan geçirilerek ve -20°C de saklanmıştır.

2.2.2 Kök- Gövde Uzunluklarının ve Yaş-Kuru Ağırlıkların Ölçülmesi

Hasatları yapılan pamuk bitkilerinin cetvel ile kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür. Uzunluk ölçümleri yapılan bitkilerin yaş ağırlıkları ölçülüp filtre kağıtları arasında etüve konulmuşlardır. İki gece 65 °C de etüvde bekletilen bitkilerin daha sonrasında kuru ağırlıkları ölçülmüştür.

2.2.3 Gümüş Nanopartikül Sentezi

Gümüş nanopartikülü, defne (*Laurus nobilis* L.) bitkisinden sentezlenmiştir. 10 g. *Laurus nobilis* sıvı azotla toz haline getirilmiş. 100 mL %60 etanolde 18 saat bekletilmiştir. Falcon tüplere 40 mL alınan ekstraktlar 4500 rpm 10 dakika 25°C

santrifüj edilmiştir. 60 mL alınan ekstraktın pH'ı 9 a ayarlanmış ve daha sonra 30 mL 5 mM Gümüş nitrat (AgNO_3) eklenmiştir. 4 saat sentez için beklenmiştir. Bu süre sonunda ekstrakt her bir eppendorfa 1.5 mL olacak şekilde paylaştırılmış ve 12000 rpm de 15 dakika 25°C de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar uzaklaştırılmış ve pelletler 1 mL distile suyla üç kez yıkanmıştır. Yıkama bittikten sonra aseton ile bir yıkama daha yapıp klorofiller uzaklaştırılarak tekrar santrifüj işlemi yapılmıştır. Süpernatantlar uzaklaştırıldıktan sonra pelletler bir gece kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan pelletler suda çözülerek nanopartikül solüsyonu elde edilmiştir.

2.2.4 Gümüş Nanopartikülün Karakterizasyonu

Sentezlenen gümüş nanopartiküllerinin karakterizasyonu, UV/Vis spektrofotometre, Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) ve Zeta sizer kullanılarak yapılmıştır.

2.2.5 Fotosentetik Verimin Belirlenmesi

Bakteri ve nanopartikül ile muamele edilmiş 4 yapraklı aşamadaki pamuk bitkisinin yaprakları klipsler yardımı ile 30 dakika boyunca karanlığa adapte edilmiştir. pamuk fidelerinin fotosentetik verimi Hansatech (UK) fotosentetik verim analizörü ile belirlenmiştir.

2.2.6 Klorofil İçeriğinin Belirlenmesi

Lichtenthaler (1987) yöntemine göre Bitkilerin klorofil a,b ve total klorofil içerikleri belirlenmiştir. 0.1 g bitki yaprağı %80'lik aseton çözeltisi ile porselen havanda buz üzerinde sıvı azot eklenerek dövülmüştür. Elde edilen homojenat filtre kağıdı ile süzülerek tüplere alınmıştır ve 663, 645 ve 470 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümleri yapılmıştır. Klorofil a,b ve total klorofil içeriği aşağıdaki formüller ile belirlenmiştir.

Klorofil a (mg g^{-1}) = $[(12.7 \times A_{663}) - (2.6 \times A_{645})] \times \text{mL aseton/mg yaprak miktarı}$

Klorofil b (mg g^{-1}) = $[(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] \times \text{mL aseton/mg yaprak miktarı}$

Total Klorofil = Klorofil a + Klorofil b

Klorofil a/b= Klorofil a/Klorofil b

Total Karotenoid=1000 x A₄₇₀-1.90 x Klorofil a-63.14 x Klorofil b/214

2.2.7 Oksidatif Stress Etkisinin Belirlenmesi

2.2.7.1 Hidrojenperoksit (H₂O₂) İçeriğinin Belirlenmesi

Sergieff et al. (1997) yöntemine göre yapılan denemede 0.1 g bitki yaprağı 3 mL %0.1 trikloroasetik asit (TCA) ile havanlarda sıvı azot eklenerek buz üzerinde homojenize edilmiştir. Homojenat 4500 rpm de 30 dk +4 derecede santrifüj edilmiştir. Hazırlanan süpernatantların bir kısmı lipid peroksidasyonu deneyi için hazırlanan süpernatantların bir kısmı hidrojen peroksit miktarının ölçülmesi için ayrılmıştır. Ayrılan süpernatanttan 0.05 mL tüpe alınmıştır. 0.5 mL 10 mM KH₂PO₄ tamponu ve 1 mL 1M KI eklenen tüpler vortekslenmiştir. Hazırlanan örneklerin 390 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbensları okunmuştur. Kör olarak 0.5 mL %1 TCA, 0.5 mL 10 mM KH₂PO₄ ve 1 mL 1 M KI karışımı kullanılmış. Hesaplamalar oluşturulan standart grafiğine göre yapılmıştır. Bu deneyler dört tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.2.7.2 Lipid Peroksidasyonun Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu ürünlerinin düzeyi Cakmak and Horst (1991) yöntemine göre malondialdehit (MDA) miktarı ile belirlenmiştir. MDA miktarını belirlemek için ayrılan süpernatantlardan pigment materyallerinden kaynaklanabilecek farkı düzeltmek için tiyobarbitürik asit (TBA) içeren ve TBA içermeyen olmak üzere 2 farklı paralel tüp hazırlanmıştır. İlk tüpte 0.5 mL süpernatant 1.5 mL %20 TCA (w/v) ile karıştırılmıştır. İkinci tüpte ise 0.5 mL süpernatant 1.5 mL %0.5 TBA içeren %20 TCA (w/v) ile karıştırılmıştır. Örnekler 30 dk boyunca su banyosunda kaynatılmıştır. Buz banyosunda soğutulduktan sonra oda sıcaklığına gelmesi için bırakılmıştır. Örneklerin 532 ve 600 nm dalga boyunda absorbensları spektrofotometrede ölçülmüştür. Deneyler dört tekrarlı olarak yapılmıştır. Sonuçlar, $E = E'_{532} - E'_{600}$ denklemi üzerinden hesaplanmıştır.

2.2.8 *In vitro* Antimikrobiyal Aktivite Testi

Fitosentez yöntemiyle sentezlenen gümüş nanopartikülünün antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için, *Verticillium dahliae* izolatları (Vd11) 25 °C’de 21 gün inkübe edilerek gençleştirilmiştir. Tekrardan hazırlanan PDA ortamı petri kaplarına aktarılmadan önce 15mL AgNP sıvı haldeki PDA ortamının içine dökülerek karıştırılmış ardından petri kaplarına aktararak bir gece oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ertesi gün genç kültürden delgeçler yardımıyla 1cm çapında parçalar çıkarılarak petri kaplarının ortasına koyulmuş 14 gün süre ile 25 C°’de inkübasyona bırakılmıştır.

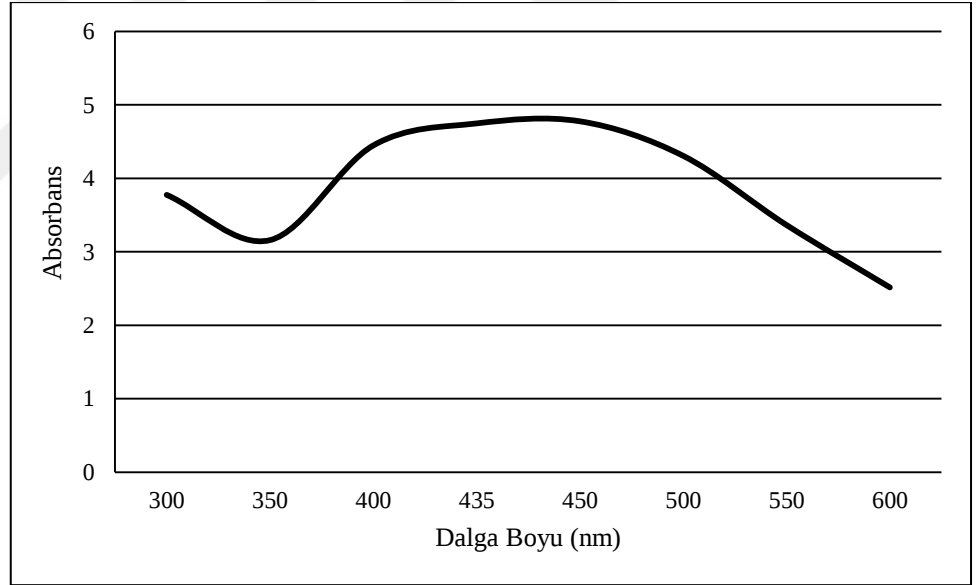
2.2.9 İstatistiksel Analizler

Pamuk bitkilerinde yapılan çeşitli analizlerden elde edilen verilerin standart hata değerlerinin belirlenmesi ve ortalamalar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi için “Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 24.0)” programı kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıkların değerlendirilmesi $p<0.05$ önemlilik derecesinde Tukey HSD testleri ile yapılmıştır.

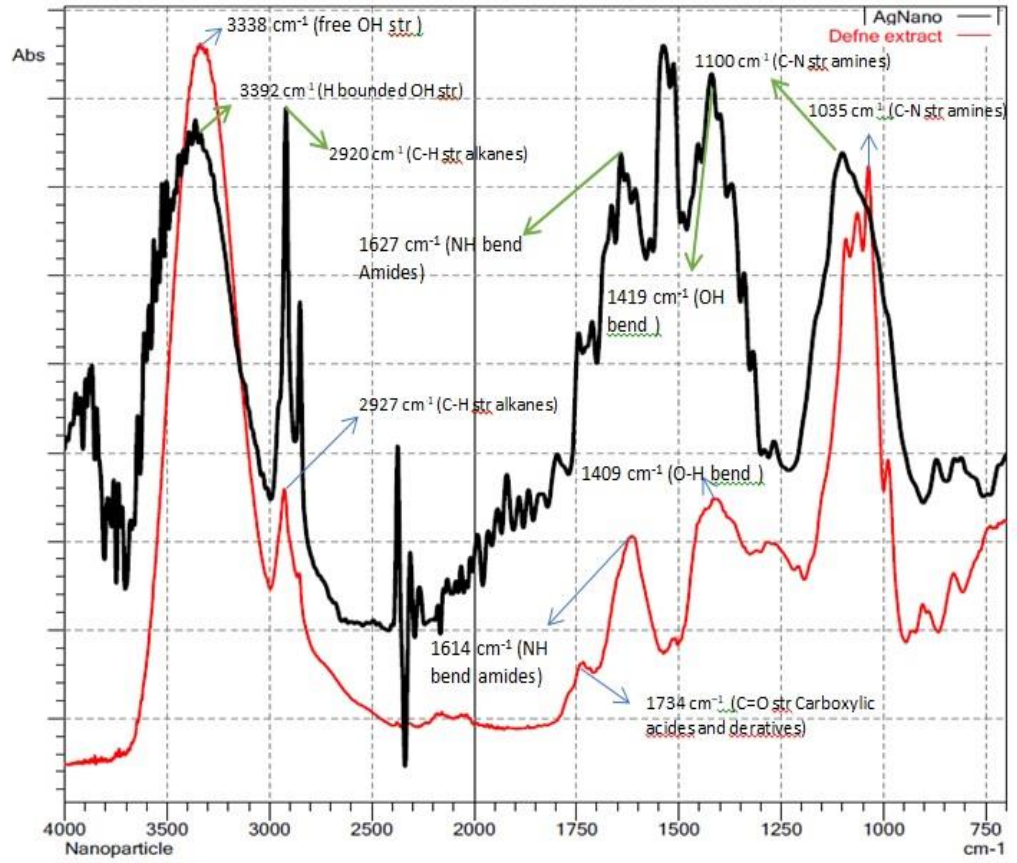
3 BULGULAR

3.1 Nanopartikül Karakterizasyonu

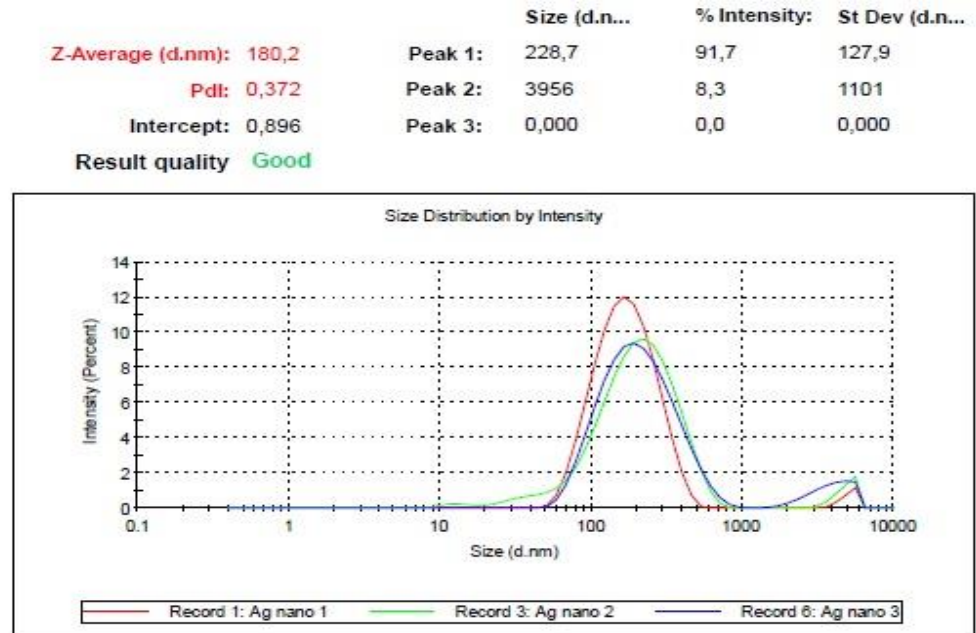
Gümüş nanopartikülü, defne (*Laurus nobilis*) bitkisi ekstraktları kullanılarak sentezlenmiştir. Spektrofotometrik ölçümlere göre, en yüksek pik değerleri 400 ve 435 nm arasında elde edilmiştir (Şekil 3.1.1). FT-IR analizi sonuçlarına göre absorblanslardaki kaymalar bağ değişikliğinin göstergeleridir. 3500-3000 aralığında yapılan okumalarda nanopartikülde absorblans azalması OH bağlarının ayrıldığına işaret etmekte ve oluşan C-O bağları 1250-1000 arasındaki absorblans değişikliğini açıklamaktadır. (Şekil 3.1.2). Nanopartikül için yapılan Zeta sizer analizinin sonuçlarına göre ise nanopartikül büyüklüğü 180 nm ve yükü -11 mV olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1.3 ve Şekil 3.1.4).



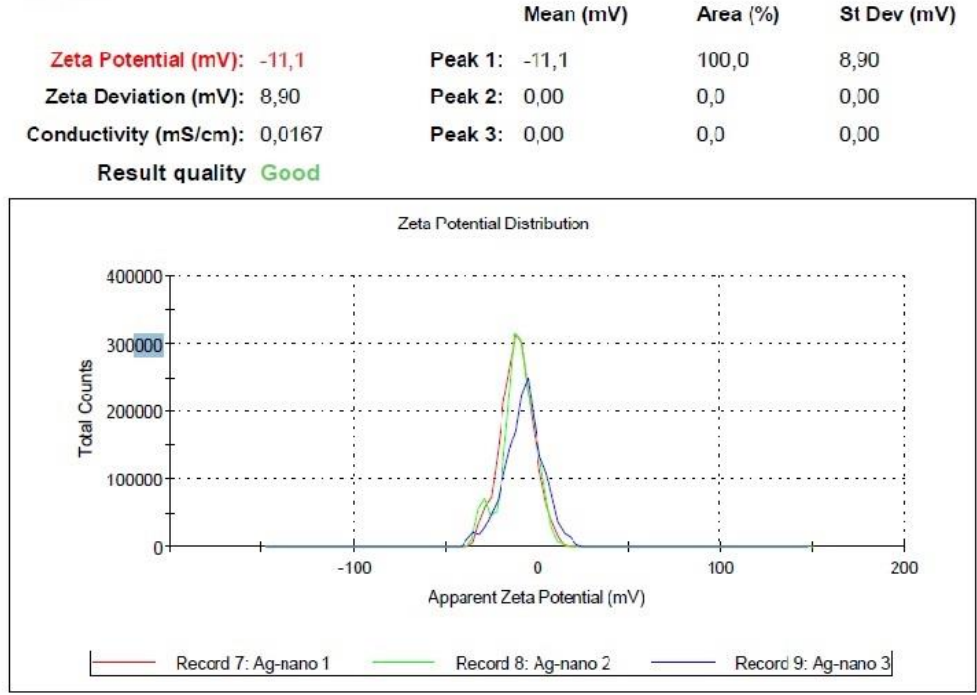
Şekil 3.1.1. Sentezlenen AgNP nanopartikülünün spektrofotometrik sonuçları



Şekil 3.1.2. Sentezlenen AgNP nanopartikülünün FT-IR sonuçları



Şekil 3.1.3. Sentezlenen AgNP nanopartikülünün Zeta-sizer sonuçları

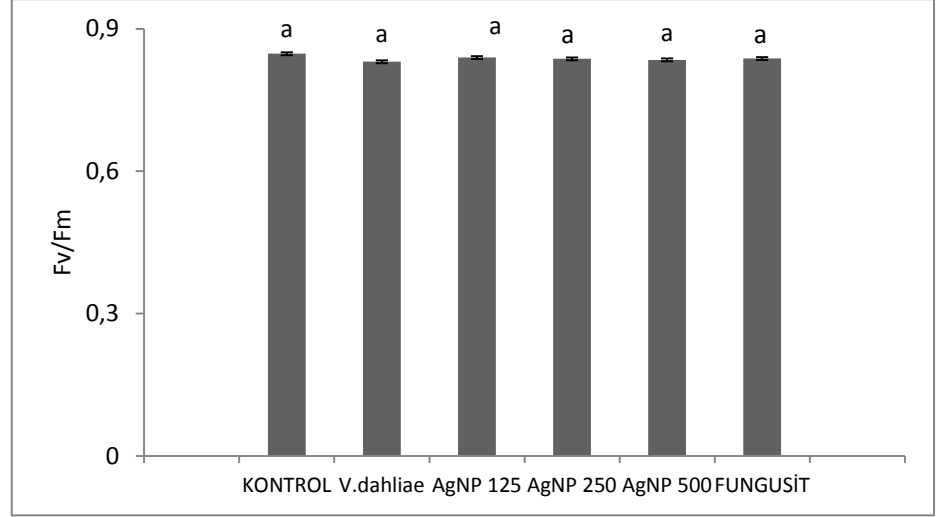


Şekil 3.1.4. AgNP nanopartikülünün Zeta Potential sonuçları

3.2 Fotosentetik Verim (Fv/Fm) Belirlenmesi

Fotosistem II'de ışığın maksimum absorpsiyonu ile Fv/Fm oranı doğru orantılıdır. Bitkiler biyotik veya abiyotik stres koşullarına maruz kaldıklarında Fv/Fm oranında genellikle düşüş gözlenir.

Kurulan sera denemesinde kontrol, *Verticillium dahliae* ile inoküle edilmiş, AgNP ve fungusit uygulanmış grupların fotosentetik verimleri AgNP uygulamasından 34 gün sonra fotosentetik verim analizörü (Hansatech, UK) ile belirlenmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 3.2.1'de gösterilmiştir. Fv/Fm oranı, uygulama ve kontrol grupları arasında önemli bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 3.2.1).



Şekil 3.2.1. AgNP ve *Verticillium dahliae* inokülasyonundan 34 gün sonra elde ölçülen Fv/Fm oranları.

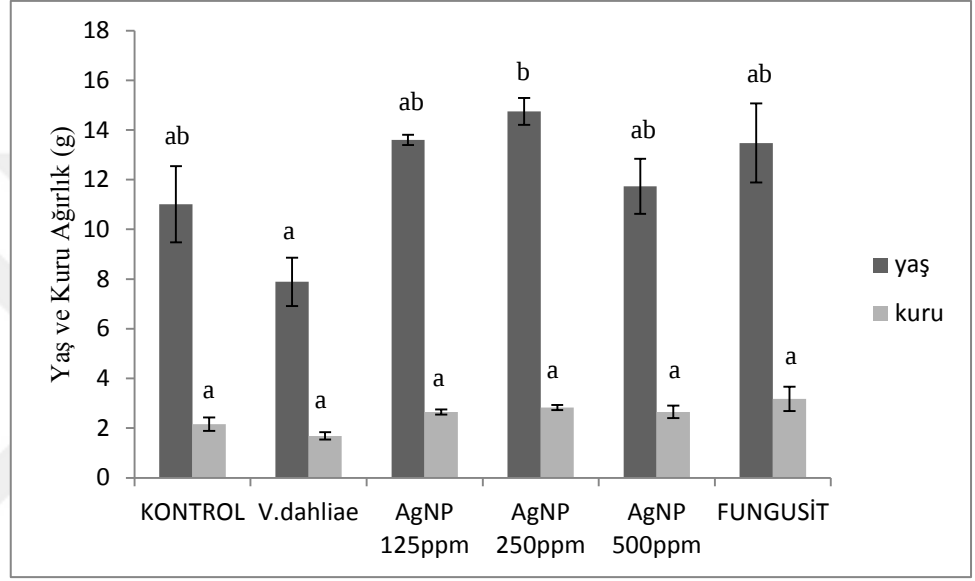
Çizelge 3.2.1. AgNP ve *Verticillium dahliae* inokülasyonundan 34 gün sonra elde ölçülen Fv/Fm oranları.

	Fv/Fm ± SH
Kontrol	0,8475±0,00104
<i>V.dahliae</i>	0,8308±0,00778
AgNP 125 ppm	0,8395±0,00272
AgNP 250 ppm	0,8368±0,00390
AgNP 500 ppm	0,8345±0,00171
Fungusit	0,8375±0,00312

3.3 Yaş ve Kuru Ağırlık

Fizyolojik denemelerde yaş kuru ve kuru ağırlık, kök ve gövde uzunluğu, bitki uygulamaların bitki büyüme ve gelişme üzerindeki etkisi değerlendirme açısından önemli parametrelerdir. Bu çalışmada *Verticillium dahliae* ile enfekte olmuş ve AgNP uygulamasına maruz bırakılmış gruplarda, yaş ağırlık ve kuru ağırlık ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre şekil 3.3.1 de gösterildiği gibi *Verticillium dahliae* uygulamasının yapıldığı kontrol (+) grubunun yaş ağırlığında; AgNP 125 ppm, AgNP 250 ppm uygulamalarının ve fungusit uygulamasının yapıldığı gruplara göre anlamlı farklılık göstermiştir.

Fungus enfeksiyonu ile bitkide yaş ağırlıkta özellikle 250 ppm Ağ uygulamasına göre önemli bir azalma (%86.9) belirlenmiştir. *V. dahliae* inoküle edilen pamuk bitkilerinde yaş ağırlığın 125 ppm AgNP uygulamasına göre %72 oranında daha düşük olduğu, 250 ppm AgNP ve fungusit uygulamalarına göre ise sırasıyla %86.9 ve %70.7 oranında daha az yaş ağırlığa sahip olduğu görülmüştür. Yaş ağırlıkları ölçülen bitkiler, 48 saat boyunca 65 °C sıcaklıkta kurumaya bırakılmış ve ağırlıkları tekrar tartıldığında, gruplar arasında kuru ağırlıklar bakımından anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir (Şekil 3.3.1 ve Çizelge 3.3.1.).



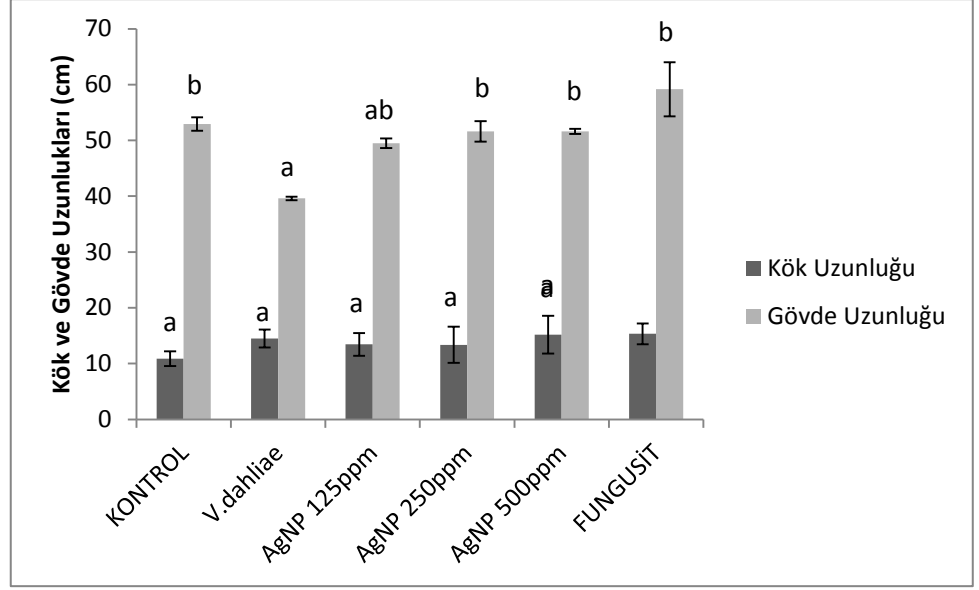
Şekil 3.3.1. Enfeksiyon sonrası AgNP uygulamasının, deneme grupları üzerinde yaş ve kuru ağırlığa olan etkisi.

Çizelge 3.3.1. Enfeksiyon sonrası AgNP uygulamasının, deneme grupları üzerinde yaş ve kuru ağırlığa olan etkisi.

	Yaş Ağırlık±SH	Kuru Ağırlık±SH
Kontrol	11,0099±1,53015	2,1620±0,27135
V. dahliae	7,8895±0,97055	1,6872±0,15105
AgNP 125 ppm	13,6013±0,2013	2,6484±0,10430
AgNP 250 ppm	14,7470±0,54300	2,8249±0,10510
AgNP 500 ppm	11,7283±1,11056	2,6504±0,25315
Fungusit	13,4747±1,59380	3,1786±0,48641

3.4 Kök ve Gövde Uzunlukları

Fizyolojik olarak değerlendirilmek üzere *Verticillium dahliae* ve AgNP uygulaması yapılan grupların kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür, elde edilen veriler Şekil 3.4.1. ve Çizelge 3.4.1. de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre; gruplar arasında kök uzunlukları bakımından anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir. Gövde uzunlukları değerlendirildiğinde *V. dahliae* inoküle edilen pamuk bitkilerinde diğer gruplara göre daha kısa gövde gelişimi belirlenmiştir. Fungusla enfekte olan bitkilerin, 250 ppm ve 500 ppm AgNP, kontrol ve Fungusit uygulamaları grupları ile gövde uzunluğu açısından anlamlı farklılık olduğu gözlemlenmiştir. Elde edilen verilere göre (Şekil 3.4.1.) *V. dahliae* inoküle edilen pamuk bitkilerinde 250 ppm ve 500 ppm AgNP, kontrol ve Fungusit uygulamaları gruplarına göre gövde uzunluğunun sırasıyla %34, %30, %25 ve %49 oranında azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 3.4.1. Enfekte olan gruplarda AgNP ve fungusit uygulamasının kök ve gövde uzunluğuna olan etkisi

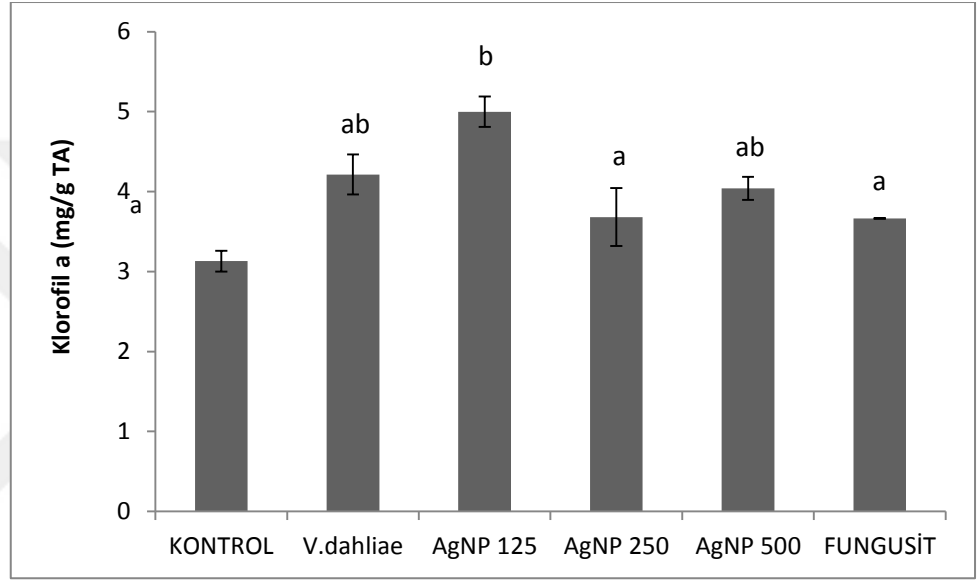
Çizelge 3.4.1. Enfekte olan gruplarda AgNP ve fungusit uygulamasının kök ve gövde uzunluğuna olan etkisi

	Kök Uzunluğu	Gövde Uzunluğu
Kontrol	10,8667 ± 1,31698	52,9333 ± 1,21701
V. dahliae	14,5000 ± 1,60728	39,6000 ± 0,32146
AgNP 125 ppm	15,1667 ± 2,02183	51,6000 ± 0,86667
AgNP 250 ppm	13,3667 ± 3,25389	51,6000 ± 1,83303
AgNP 500 ppm	13,4333 ± 3,39820	49,4667 ± 0,45092
Fungusit	15,3333 ± 1,85592	59,1667 ± 4,83333

3.5 Fotosentetik Pigment İÇeriği Analizleri

3.5.1 Klorofil a Miktarı

Pamuk bitkisi deney gruplarına ait klorofil a sonuçları Şekil. 3.4.1.1 ve Çizelge 3.4.1.1 de gösterilmiştir. OnuĐlar değerlendirildiğinde, en yüksek klorofil a miktarınının 125 ppm AgNP uygulanan grupta olduğu belirlenmiştir. Bu gruba göre, kontrol, fungusit ve 250 ppm AgNP uygulanan gruplarda sırasıyla %37,%26 ve %26 oranında düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 3.4.1.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a miktarları

Çizelge. 3.4.1.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a miktarları

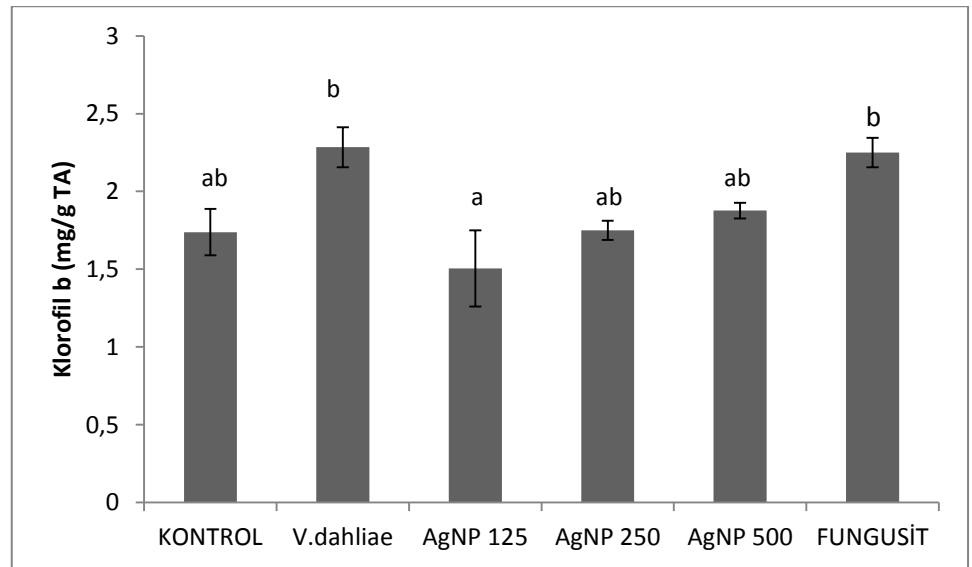
	Klorofil a $\pm$ SH
Kontrol	3,1307 $\pm$ 0,13040
V. dahliae	4,2141 $\pm$ 0,25038
AgNP 125 ppm	4,9991 $\pm$ 0,18992
AgNP 250 ppm	3,6816 $\pm$ 0,36128
AgNP 500 ppm	4,0408 $\pm$ 0,14473
Fungusit	3,6638 $\pm$ 0,00535

İstatistik olarak

$p < 0.05$ düzeyinde önemli farklılık

3.5.2 Klorofil b Miktarları

Pamuk bitkisinde klorofil b miktarına ilişkin bulgular Şekil 3.4.2.1 ve Çizelge 3.4.2.1’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; en düşük klorofil b miktarı 125 ppm AgNP uygulaması yapılan grupta belirlenmiştir. Bu grubun kl b miktarı, *V. dahliae* ile enfekte gruba ve fungusit uygulanan bitkilere göre sırasıyla %52 ve %49 daha düşük bulunmuştur.



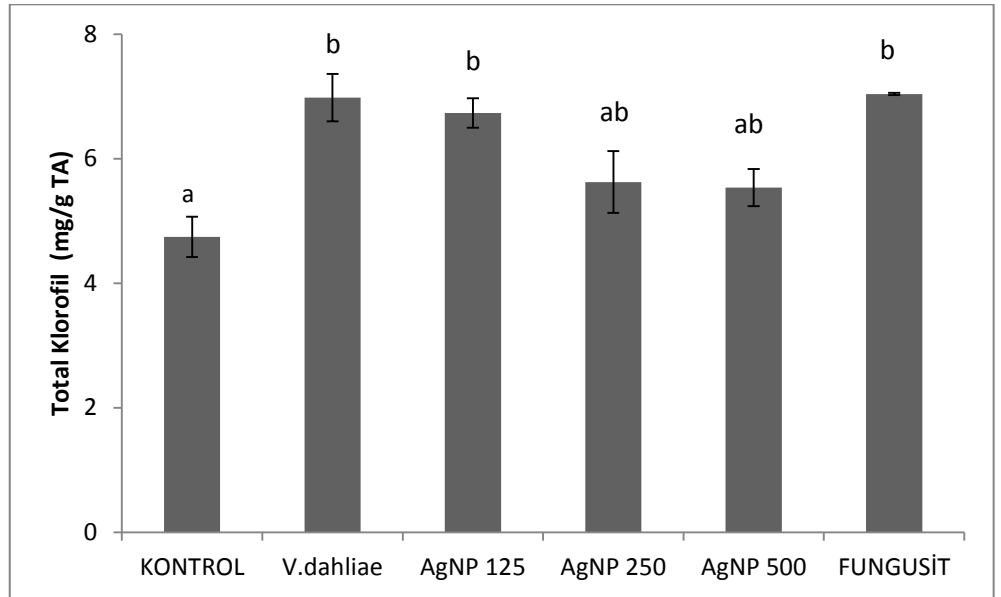
Şekil 3.4.2.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil b miktarları

Çizelge 3.5.2.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil b miktarları

Klorofil b Miktarları $\pm$ SH	
Kontrol	1,7385 $\pm$ 0,14928
V. dahliae	2,2844 $\pm$ 0,12807
AgNP 125 ppm	1,5051 $\pm$ 0,24452
AgNP 250 ppm	1,7499 $\pm$ 0,06207
AgNP 500 ppm	1,8765 $\pm$ 0,05084
Fungusit	2,2506 $\pm$ 0,09501

3.5.3 Total Klorofil Miktarı

Pamuk bitkisiyle kurulan denemede elde edilen total klorofil miktarını gösteren sonuçlar Şekil 3.4.3.1 ve Çizelge 3.4.3.1 de belirtilmiştir. *V. dahliae* ile enfeksiyonu, 125 ppm AgNP ve Fungusit uygulamasının kontrol grubuna göre total klorofil miktarında sırasıyla %47, %42 ve %48 oranında artışa neden olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$)



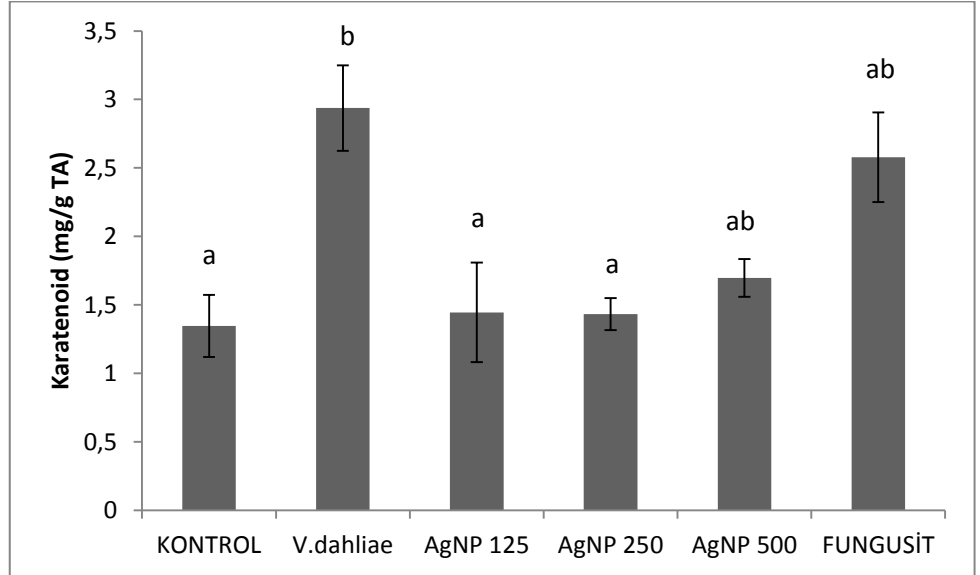
Şekil 3.4.3.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların total klorofil miktarları

Çizelge 3.4.3.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların total klorofil miktarları

Total Klorofil Miktarları $\pm$ SH	
Kontrol	4,7415 $\pm$ 0,32425
V. dahliae	6,9817 $\pm$ 0,38055
AgNP 125 ppm	6,7334 $\pm$ 0,23669
AgNP 250 ppm	5,6235 $\pm$ 0,49674
AgNP 500 ppm	5,5371 $\pm$ 0,29814
Fungusit	7,0378 $\pm$ 0,01767

3.5.4 Karotenoid Miktarı

Pamuk bitkilerinin total karotenoid miktarları Çizelge 3.4.4.1 ve Şekil 3.4.4.1’de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre, pamuk fidelerinin *V. dahliae* ile enfeksiyonu total karotenoid miktarında önemli bir artışa neden olmuştur. Karotenoid miktarındaki istatistiki olarak anlamlı fark oluşturan bu artış kontrol, 125 ppm ve 250 ppm AgNP uygulama gruplarına göre sırasıyla %54, %51 ve %51 oranında gerçekleşmiştir.



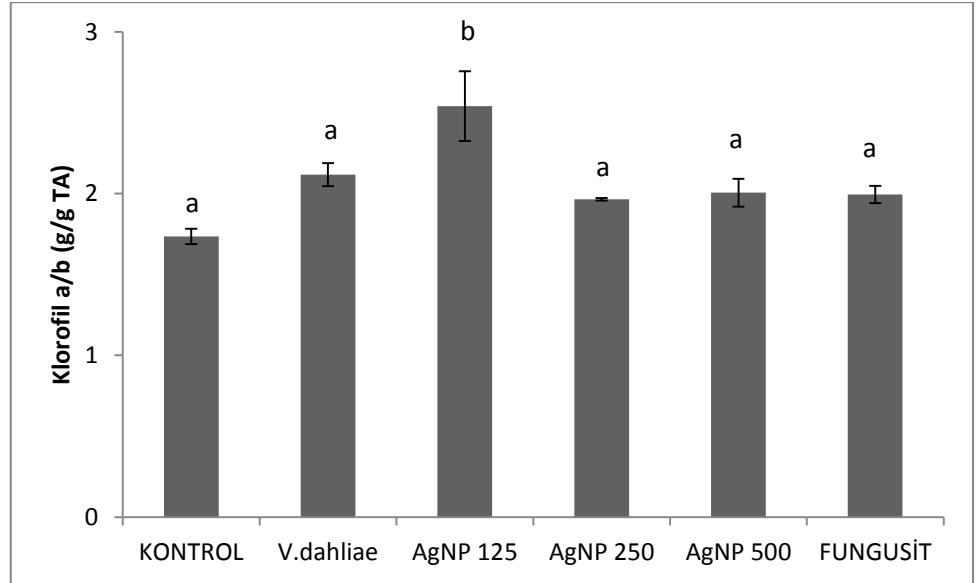
Şekil 3.5.4.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların karotenoid miktarları.

Çizelge 3.5.4.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların karotenoid miktarları.

Karotenoid Miktarları $\pm$ SH	
Kontrol	1,3470 $\pm$ 0,22674
V. dahliae	2,9375 $\pm$ 0,31166
AgNP 125 ppm	1,4455 $\pm$ 0,36280
AgNP 250 ppm	1,4321 $\pm$ 0,11661
AgNP 500 ppm	1,6957 $\pm$ 0,13791
Fungusit	2,5782 $\pm$ 0,32775

3.5.5 Klorofil a/b Oranları

Pamuk bitkilerinin klorofil a/b oranları Şekil 3.4.5.1 ve Çizelge 3.4.5.1’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek klorofil a/b oranı 125 ppm AgNP uygulanan grupta belirlenmiştir. Pamuk fideleri yapraklarında kontrol ve diğer uygulama grupları arasında istatistiksel anlamda önemli fark belirlenmemiştir.



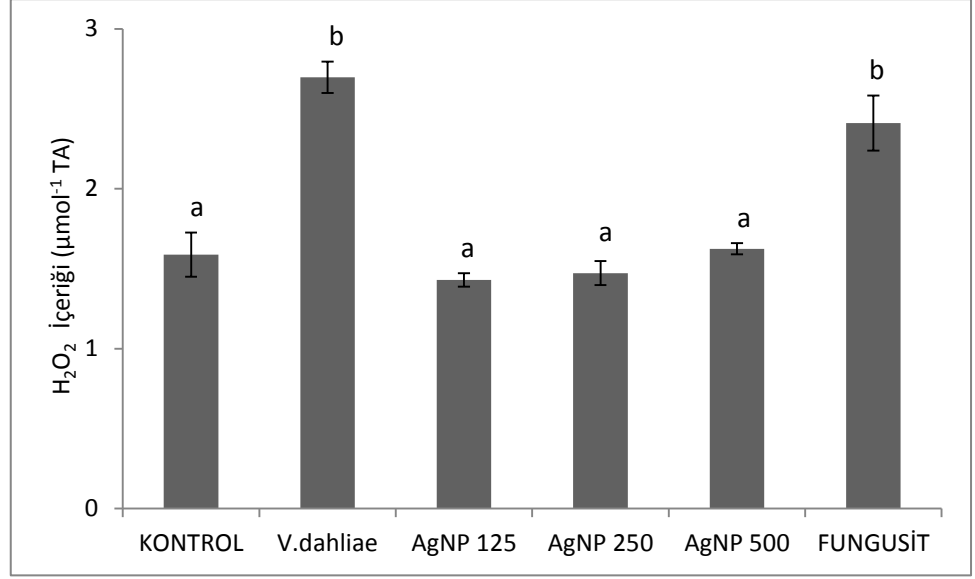
Şekil 3.5.5.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a/b oranı

Çizelge 3.5.5.1 Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların klorofil a/b oranı

	Klorofil a/b miktarları $\pm$ SH
Kontrol	1,7350 $\pm$ 0,04696
V. dahliae	2,1173 $\pm$ 0,07098
AgNP 125 ppm	2,5396 $\pm$ 0,21550
AgNP 250 ppm	1,9649 $\pm$ 0,00795
AgNP 500 ppm	2,0048 $\pm$ 0,8611
Fungusit	1,9941 $\pm$ 0,05381

3.6 Hidrojen Peroksit Miktarı

Abiyotik veya biyotik stres faktörlerinin etkisiyle bitkilerde reaktif oksijen türleri (ROS) açığa çıkabilir. Oluşan bu ROS türevleri bitki hücresi bütünlüğüne zarar vererek ve biyotik veya abiyotik stress koşullarının devamı halinde bitkinin ölümüne yol açabilir. *Verticillium dahliae* fungusunun pamuk bitkisinde iletim demetlerini tıkamasıyla, bitkide metabolik aktivitenin bozulması toksik reaktif oksijen türü olan H₂O₂ miktarının artmasına neden dolayısıyla oksidatif strese neden olmuştur. Elde edilen verilere göre kontrol grubuna göre bitkinin fungusla enfeksiyonu ve fungusit uygulamaları yapılan gruplarda H₂O₂ miktarı sırasıyla %70 ve %52 oranında artış göstermiştir (Şekil 3.6.1. ve Çizelge 3.6.1)



Şekil 3.6.1. Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların H₂O₂ miktarları

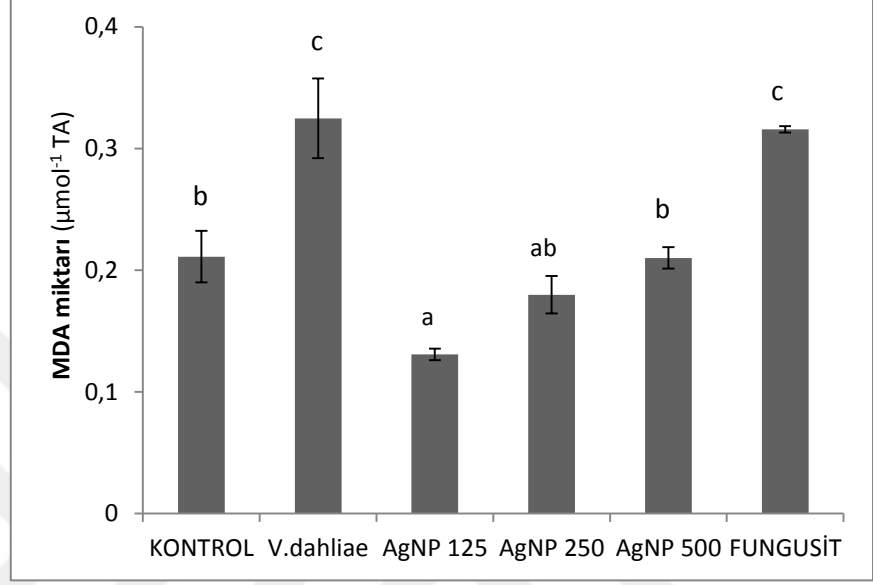
Çizelge 3.6.1. Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların H₂O₂ miktarları

	H ₂ O ₂ miktarları±SH
Kontrol	1,5879±0,13769
V. dahliae	2,6974±0,09831
AgNP 125 ppm	1,4291±0,03543
AgNP 250 ppm	1,4725±0,07551
AgNP 500 ppm	1,6245±0,04176
Fungusit	2,4107±0,17175

3.7 Lipid Peroksidasyonu Miktarı

Abiyotik ve biyotik stres faktörleri sonucu ortaya çıkan ROS'leri bitkilerde membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesine neden olarak, lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarına neden olmaktadır. Lipid peroksidasyonu sonucu açığa çıkan yan ürünlerden biri olan malondialdehit (MDA) miktarının belirlenmesi, oksidatif stres sonucu membran bütünlüğünde oluşan hasar hakkında önemli bilgi sunmaktadır. Pamuk fidelerinde, uygulama grupları arasında en yüksek MDA miktarları dolayısıyla lipid peroksidasyon

oranı *V. dahliae* fungusu ile enfeksiyon ve fungusit uygulamaları yapılan gruplarda belirlenmiştir (Şekil. 3. 7.1. ve Çizelge 3. 7.1). Elde edilen bulgulara göre fungus enfeksiyonu; kontrol, 125 ppm, 250 ppm ve 500 ppm AgNP uygulamalarına MDA miktarında sırasıyla %39, %64, %45 ve %42 oranında artışa neden olmuştur.



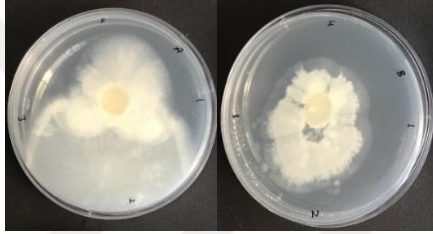
Şekil. 3.7.1. Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların MDA miktarları

Çizelge 3.7.1. Enfeksiyon sonrası pamuk bitkisinde uygulama yapılan grupların MDA Miktarları

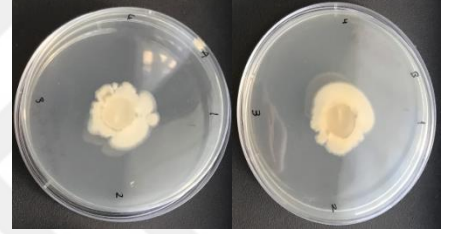
	MDA miktarları±SH
Kontrol	0,2110±0,02117
V. dahliae	0,3248±0,002981
AgNP 125 ppm	0,1308±0,00240
AgNP 250 ppm	0,1798±0,01184
AgNP 500 ppm	0,2100±0,00529
Fungusit	0,3157±0,00273

3.8 *In vitro* Antimikrobiyal Aktivite

Kurulan antimikrobiyal aktivite testinde kontrol herhangi bir uygulama yapılmayan ve 500 ppm AgNP uygulaması yapılan *Verticillium dahliae* kültürleri 14 gün boyunca inkübasyona bırakıldıktan sonra, ortamda misel gelişimi 2 boyutta (uzunluk ve genişlik) ölçümler ile belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol grubunda misel gelişimi görülen bölgenin uzunluğu ortalama 4.8 cm, genişliği ise ortalama 6.4 cm olarak belirlenmiştir. AgNP ilave edilen ortama inoküle edilen *Verticillium dahliae* kültüründe ise misel gelişen bölgenin ortalama uzunluğu 2.75 cm, ve genişliği ise 2.75 cm olarak ölçülmüştür. Sonuçlar AgNP uygulamasının misel gelişimini engellediğini ortaya koymaktadır.



Kontrol (-)



AgNP uygulaması

4 SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Nanopartiküller, bitki büyüme düzenleyicisi, fotosentetik verim arttırma, gübreleme, antioksidan aktiviteleri, bitki koruma ajanları olma özellikleriyle tarımda kullanım potansiyeli göstermektedirler. Nanoteknolojide son 20 yılda gerçekleşen bu hızlı gelişme ve ticari olarak kullanımının yaygınlaşması, toksisite konusunda endişelere neden olmuştur. Fiziksel yöntemlerle elde edilen nanopartiküllerin, sentez süresi boyunca çok fazla enerji harcanmasına sebep olması, kimyasal yöntemlerle sentezlenen nanopartiküllerin ise stabilizatör ve kaplayıcı ajanlar olarak kullanılan kimyasal maddelerin neden olduğu toksisite sorunu ve iki yönteminde yüksek maliyetli olması, biyolojik sentez kavramının popülaritesini arttırmıştır. Biyolojik sentez yöntemi biyolojik materyaller stabilizatör ve kaplayıcı ajan olarak işlev görebildiği, toksisite ve maliyet açısından avantajlar sağlayabilen yöntemlerdir. Kullanılan organizmalar arasında bitkiler, özellikle de yüksek fenolik içeriğe sahip bitkiler biyolojik sentez için en çok tercih edilen biyolojik materyallerdir.

Pamuk bitkisi önemli bir endüstriyel ham maddedir, sadece ülkemizde 2011 verilerine göre yıllık pamuk üretimi 1 000 000 tondur, dünya çapında ise yaklaşık 200 milyon ton pamuk üretimi yapılmaktadır. Pamuk bitkisinde üretimi önemli ölçüde engelleyen bir patojen olan *Verticillium dahliae* fungusu, bitkide iletim elemanlarını tıkayarak su ve besin dolaşımını engeller ve bu şekilde solgunluk hastalığına neden olmaktadır. *Verticillium dahliae* patojeninin pamuk dışında, ticari öneme sahip 400 farklı bitki türünde solgunluk hastalığına neden olduğu bilinmektedir. Bu patojenin kimyasal veya geleneksel yöntemlerle bilinen bir mücadele yöntemi bulunmamaktadır.

Nanoteknolojinin gelişmesiyle beraber ziraai alanda patojenik hastalıklara karşı mücadelede nanogümüşün kullanımı oldukça yaygınlaşmış ve literatürde fitopatogenlere karşı gümüş nanopartiküllerin etkisinin rapor edildiği bir çok çalışma yer almıştır (Mahdizadeh vd., 2015; Kim vd., 2012).

Bu tez çalışmasında *Laurus nobilis* (defne) bitkisi kullanılarak yeşil sentez yoluyla elde edilen gümüş nanopartikülünün, pamuk bitkisinde solgunluk

hastalığına neden olan *Verticillium dahliae* fungusu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada; *In vivo* ve *in vitro* antifungal aktivite denemesi gerçekleştirilmiş, pamuk bitkisinde enfeksiyon sonrası morfolojik değişimleri gözlemlenmiş, fotosentetik verim, klorofil içeriği, ROS üretimi ve lipid peroksidasyon düzeyleri araştırılmıştır.

Sentezlenen gümüş nanopartikülün karakterizasyonu için FT-IR, spektrofotometrik analiz, Zeta sizer ve Zeta potansiyel analizleri yapılmıştır. Yapılan spektrofotometrik ölçüme göre gümüşün karakteristik olan 400 ile 435 nm dalga boyu arasındaki pik sentezlenen gümüşün literatürde belirtilen tipik plazmon rezonans aralığına sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan FT-IR analizi sonuçları, defne bitkisinden gelen bitki bileşenlerinin ve fenolik maddelerin sentez sırasında Ag iyonları için stabilizatör ve kaplayıcı ajan olarak görev yaptığı nanopartikül yapısına katıldığını göstermiştir. Nanogümüşün boyut ve elektron yükünü belirlemek için yapılan ZETA analizine göre, sentezlenen gümüş nanopartikülünün 180 nm boyuta sahip olduğu ve partikül yükünün -11mV olduğu belirlenmiştir, partikül yükünün 0 (sıfır) değerinden + veya - yöne doğru uzaklaşması partiküller arasındaki aglomerasyonun en aza indirgenmesi için önemli bir değerdir. Bitki tarafından nanopartikülün alınımı, dağıtımı ve birikimi konusundaki en önemli faktör partikül boyutudur. Literatürde nanopartiküllerin'lerin alınımı taşınımı ve birikimi ile ilgili çok daha az araştırma yapılmıştır. Nanomateryaller bitkilerde kök ve yapraklardan absorbe edilebilir. Bu çalışmada yapraktan spreysel şekilde uygulanan AgNP lerin stomalardan bitkiye girişinin gerçekleşmesi olasıdır. Yapraktan gerçekleşen alımda ise yaprak stomaları aracılığı ile içeri alımın gerçekleşir ve yaprak vasküler sistemine giriş yaptıktan sonra floem aracılığıyla diğer bölümlere taşınır. Kök epidermisine ve endodermine nüfuz ederek ksilem yolu ile diğer organlara taşınabilirler. Hücresel nüfuz en çok kabul edilen alım modu olsa da nanopartiküllerin kesin olarak alım mekanizması tamamen anlaşılamamıştır (Sicquidi ve El Wahibi; 2015). Nanopartiküller küçük boyutlarda düşünüldüğünde por boyutu (2-20nm) arasında olan hücre hücre çeperinden nüfuzu gerçekleşebilir fakat bu por boyutu 20 nm'den büyük NP'lerin geçişi için sınırlayıcı olabilir (Sicquidi ve El Wahibi; 2015).

AgNP ve *Verticillium dahliae* fungusunun pamuk bitkisinde kök, gövde, yaş ağırlık ve kuru ağırlık ölçümleri yapılmış elde edilen sonuçlara göre, yaş ağırlık *Verticillium dahliae* enfeksiyonu bitkide yaş ağırlık ve gövde uzunluğunda azalmaya neden olmuştur. Yüksek konsantrasyonlarda uygulanan (500 ppm) AgNP ise gümüş nanopartikülünün pamuk bitkisinde belirli konsantrasyonlarda bitki biyokütle artışına sinde pozitif etkisi olduğunu, bitkide kök ve gövde boyu değişimine olumsuz etkisi olamadığını göstermektedir. Buğday bitkisinde gerçekleştirilen bir çalışmada 0, 25, 50, 75 ve 100 ppm konsantrasyonlarda AgNP uygulaması gerçekleştirmiş ve 75 ppm konsantrasyona kadar bitki yaş ağırlığında artış gözlemlenmiş ancak 100 ppm AgNP uygulamasında bitki yaş ağırlığında negatif bir etki gözlemlenmiştir (Iqbal vd. 2017). Literatürde benzer şekilde gümüş nanopartikül uygulamasının belirli konsantrasyonlarda bitki biyokütlesini olumlu etkilediğini yüksek konsantrasyonlarda ise bitki gelişimine ket vurabildiği şeklinde raporlar bulunmasına karşın bu çalışmada uygulanan 500 ppm konsantrasyonun dahi büyüme gelişmeye negatif etkilememesi, gümüş NP'nin defne ekstraktları kullanılarak yapılan yeşil sentezi ile ilişkilendirilebilir. Bulgularımızla paralel şekilde buğday bitkisinde yapılan başka bir çalışmada'da 50 ve 75 ppm AgNP uygulamasının kontrol grubuna kıyasla bu iki grup arasında anlamlı bir kuru ağırlık farkı olmadığını gözlemlenmiştir (Pallavi vd. 2016).

Fotosistem II tarafından 680 nm dalga boylu ışığın maksimum etkinliğini gösteren Fv/Fm oranı bitkilerde stress koşullarına bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Elde ettiğimiz Fv/Fm sonuçlarına göre; gruplar arasında Fv/Fm oranı bakımından anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. *Verticillium dahliae* fungusunun neden olduğu solgunluk hastalığının ilk aşamalarında morfolojik olarak tespitinin zor olduğu bilinmektedir. Hastalık ilk etapta ancak gövde boyuna kesitinde görülebilen iletim demeti karartılarıyla anlaşılabilir ve yapraklardaki etkisi ancak 2. Hasat döneminden sonra ortaya çıkmaktadır. Uygulanan gümüş nanopartikülde Fv/Fm oranı üzerinde negatif bir etki göstermemiştir. Bu veriler, Jang vd. (2012) yılında *Spirodela polyrhiza* bitkisi Fv/Fm oranı üzerinde AgNP'lerin etkisini ortaya koydukları raporlarıyla paraleldir.

Enfeksiyon sonrası gruplardaki klorofil miktarları arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla gerçekleştirilen klorofil analizleri sonuçlarına göre klorofil a miktarlarına bakıldığında 125 ppm AgNP uygulamasının olduğu grubun, kontrol ve fungusit uygulamasının olduğu gruplara göre anlamlı şekilde artış gösterdiği belirlenmiştir, benzer şekilde Jiang vd (2012) yılında yaptıkları çalışmada AgNP uygulamasının konsantrasyon miktarındaki artışına bağlı olarak klorofil a miktarında azalmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir (Jiang vd, 2012). Klorofil b miktarı verilerine bakıldığında kontrol grubunun diğer gruplara göre anlamlı bir fark göstermediği, ancak *Verticillium dahliae* ve fungusit uygulamasının yapıldığı gruplarının klorofil b miktarları, AgNP 125 ppm uygulamasına göre anlamlı şekilde bir artış gösterdiği belirlenmiştir. Stress koşulları altında bitkilerde klorofil a'nın 2. halkasındaki metil grubu oksitlenebilir ve klorofil a klorofil b'ye dönüşebilir. Bu durum stresse maruz kalmış bitkide klorofil b miktarında artışa sebep olmaktadır (Chettri vd, 1998; Lichtenthaler vd., 1990). Klorofil a/b oranına bakıldığında sadece 125 ppm AgNP uygulamasının diğer gruplara göre farklılık gösterdiği, diğer 5 grup arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmektedir. Total karatenoid miktarı sonuçlarına bakıldığında ise *Verticillium dahliae* ve fungusit uygulamasının bulunduğu grupların, kontrol, AgNP 125 ppm ve AgNP 250 ppm uygulamalarına oranla yüksek karatenoid içeriğine sahip olduğunu görülmektedir. Bu durum biyotik stresse maruz kalmış olan bu iki grubun antioksidant görevi gören karatenoid (Yılmaz, 2010) miktarındaki artışı açıklamaktadır. Total klorofil miktarı verilerine göre kontrol grubunun diğer 5 gruba göre farklılık gösterdiği, bu 5 grubun total klorofil miktarındaki artışın klorofil a'nın b'ye oksitlenmesi ve klorofil a sentezinin devam etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bitkiler kısa süreli biyotik ve abiyotik stresse maruz kaldıklarında oluşan ROS türevlerinin oluşturacağı zararları kendi antioksidant kapasiteleriyle engelleyebilirler, uzun süreli stress koşulları altında ROS türevlerinin artışı; membran yapısında peroksidasyonlara, zararlı aldehitlerin özellikle malondialdehit (MDA) ortaya çıkmasına ve protein, lipid, nükleik asitlere zarar görmesine neden olurlar (Edreva 2005). Bu çalışmada *Verticillium dahliae* fungusunun ve yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'nin pamuk bitkisinde

neden olduğu oksidatif stress etkisini belirlemek amacıyla patojen kaynaklı uyartılarda bitkilerde ilk oluşan reaktif oksijen molekül olarak bilinen H_2O_2 (Levine vd. 1994; Breusegem ve Dat 2006) miktarları ve dolaylı olarak meydana gelen lipid peroksidasyonu sonucu oluşacak olan malondialdehit (MDA) seviyesi ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen verilere göre kontrol ve 3 farklı AgNP uygulamasının olduğu grupların arasında anlamlı bir fark olmadığı, ancak bu grupların *Verticillium dahliae* ve fungusit uygulamalarının olduğu gruplara göre anlamlı fark gösterdiği belirlenmiştir. *Verticillium dahliae* bitkiler tarafından biyotik stres faktörü olarak algılandığı ve be nedenle bitkide H_2O_2 oluşumunun tetiklenmesi mümkündür. Bu durum 125, 250, 500 ppm AgNP uygulamasının yapıldığı gruplarda *Verticillium dahliae* patojenine karşı antifungal aktivitenin olduğunu ve AgNP'nin bitki üzerinde ağır metal stresine neden olmadığını kanıtlar niteliktedir. Denemede gruplarda MDA seviyelerine bakıldığında ise H_2O_2 miktarları ile paralel bir grafik ortaya çıkmıştır, enfekte ve fungusit uygulama gruplarındaki H_2O_2 artışının devamlılığı membrandaki lipidlerin peroksidasyonuna sebep olarak MDA seviyesinde artışa sebep olabilir. AgNP uygulamalarının olduğu gruplar ve kontrol grubu MDA seviyeleri arasındaki paralellik AgNP'nin patojen zararını engellediği sonucuna işaret edebilir. Benzer şekilde Tani vd. (2018)'da yaptıkları çalışmada *Verticillium dahliae* fungusunun patlıcan bitkisi üzerindeki fizyolojik etkilerini inceledikleri çalışmalarında *Verticillium dahliae* ile enfekte olan bitkilerin H_2O_2 ve MDA seviyelerinin artışını gözlemlemişlerdir.

In vitro antimikrobiyal aktivite denemesi sonuçlarına göre, yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'nin *Verticillium dahliae* misel gelişimini inhibe edebildiği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, 180 ppm ve daha yüksek konsantrasyonlardaki AgNP uygulamalarıyla fitopatojenik *Phomopsis* sp. fungusu gelişiminin önemli ölçüde azaldığı *in vitro* denemelerde saptanmıştır (Mendes vd. 2014).

Bu tez çalışmasında elde edilen veriler ve yapılan karşılaştırmalar göz önüne alındığında *Laurus nobilis* ekstraktlarından yeşil sentez yöntemiyle elde edilen AgNP'nin *Verticillium dahliae* fungusunun neden olduğu solgunluk hastalığına karşı mücadelede 125, 250 ve 500 ppm konsantrasyonlarda uygulama yapılmış

ve hastalığın gelişiminin engellendiği hem *in vitro* çalışmada hem de sera denemelerinde açıkça görülmüştür. Ayrıca, uygulanan gümüş nanopartikülünün pamuk bitkisinde toksik bir etkiye neden olmadığı belirlenmiştir. Yapılan tüm denemeler sonucunda, solgunluk hastalığına karşı mücadelede alternatif bir yol olarak AgNP kullanımı önerilebilir. Ancak nanopartikülün karakteristik özelliklerinin ve uygulama miktarının, toksisite ile bitki koruma arasındaki sınırları oluşturduğu göz önünde tutulmalıdır.



KAYNAKLAR DİZİNİ

Bao-shan, L., Shao-qi, D., Chun-hui, L., Li-jun, F., Shu-chun, Q., Min, Y., 2004, Effect of TMS (nanostructured silicon dioxide) on growth of Changbai larch seedlings. *J Forest Res* 15:138–140.

Brayner, R, Dahoumane, S.A., Yéprémian, C., Djediat, C., Meyer, M., Couté, A., Fiévet, F., 2010 ZnO nanoparticles: synthesis, characterization, and ecotoxicological studies. *Langmuir* 26:6522–6528.

Breusegem, F.V. and Dat, J.F., 2006, Reactive oxygen species in plant cell death. *Plant Physiol*, 141: 384–390

Bruehl, G.W. 1987. Soilborne plant pathogens. Macmillan, New York, NY.

Chettri, M.K., Cook, C.M., Vardaka, E., Sawidis, T. and Lanaras, T. (1998). The effect of Cu,Zn, and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convoluta* and *Cladonia rangiformis*. *Environmental and Experimental Botany*, 39, 1-10.

Christian, O., Dimkpa, M., Joan, E., Martineau, N., Britt., D.W., Haverkamp, R. and Anderson, A. J., 2012, Silver Nanoparticles Disrupt Wheat (*Triticum aestivum* L.) Growth in a Sand Matrix, *Environ Sci Technol.* Jan 15;47(2):1082-90.

Conway, K.E., Martin, M.J., Melok, H.A. 1983. The Potential of Soil Solarization to Control *Verticillium Dahliae* in Oklahoma. *Proceedings of the Oklahoma Academy of Science*, 63, 25-27.

Cullen, L.G., Tilston, E.L., Mitchell, G.R., Collins, C.D. and Shaw, L.J. 2011. Assessing the impact of nano- and micro-scale zerovalent iron particles on soil microbial activities: Particle reactivity interferes with assay conditions and interpretation of genuine microbial effects. 82: 1675–1682.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

de la Rosa, G., Lopez-Moreno, M.L, de Haro, D., Botez, C.E., Peralta-Videa, J.R. and Gardea-Torresdey, J.L., 2013 Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: root development and X-ray absorption spectroscopy studies. *Pure Appl Chem* 85(12):2161–2174.

Edreva, A., 2005 Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 106, 119–133.

El-Zik, K.M., 1985. Integrated control of verticillium wilt of cotton. *Plant Disease*, 69: 1025-1032.

Erdoğan, O., Sezener, V., Özbek, N., Bozbek, T., Yavaş, İ. ve Ünay, A., 2006. The effects of verticillium wilt (*Verticillium dahliae* Kleb.) on cotton yield and fiber quality. *Asian Journal of Plant Science*, 5: 867-870.

Gao, J., Xu, G., Qian, H., 2013, Effects of nano-TiO₂ on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings. *Environ Pollut* 176:63–70.

Geisler-Lee, J., Brooks, M., Gerfen, J.R., Christin, F., Qiang, W., Sparer, A., Ma, X., Berg, R. H. and Geisler, M., 2014. Reproductive Toxicity and Life History Study of Silver Nanoparticle Effect, Uptake and Transport in *Arabidopsis thaliana*,

Giraldo, J.P., Landry, M.P., Faltermeier, S.M, McNicholas, T.P., Iverson N.M., Boghossian A.A., Reuel N.F., Hilmer A.J., Sen, F., Brew, J.A., Strano, M.S., 2014, Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nat Mater* 13(4):400–408.

Govorov, A.O., Carmeli, I., 2007, Hybrid structures composed of photosynthetic system and metal nanoparticles: plasmon enhancement effect. *Nano Lett* 7:620–625.

Griffiths, D.A., 1970. The fine structure of developing microsclerotia of *Verticillium dahliae* Kleb. *Arch. Microbiol.* 74:207–212.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Gruere, G., Clare, N., Linda, A., 2011, Agricultural, food and water nanotechnologies for the poor:opportunities, constraints and role of the consultative group on international agricultural research. international food policy research institute (IFPRI), IFPRI Discussion Paper 01064.

Handy,R. D., Cornelis, G., Fernandes, T., Tsyusko, O., Decho, A., Sabo-Attwood, T., Metcalfe, C., Steevens, J. A., Klaine, S. J., Koelmans, A. A. and Horne, N., 2012 Ecotoxicity test methods for engineered nanomaterials: Practical experiences and recommendations from the bench, Environ. Toxicol. Chem., 31, 15–31.

Harris., A.T. and Bali, R., 2007 On the formation and extent of uptake of silver nanoparticles by live plants, Journal of Nanoparticle Research April, Volume 10, Issue 4, pp 691–695

Hillyer, J. F. And Albrecht, R. M., 2001, Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. Journal of Pharmaceutical Sciences, n. 12, p. 1927-1936.

<http://www.gaeu.com/item/this-is-nanotechnology-one-of-the-fastest-growing-markets-in-the-world>

Jaberzadeh, A., Moaveni, P., Moghadam, H.R.T. and Zahedi. H., 2013 Influence of bulk and nanoparticles titanium foliar application on some agronomic traits, seed gluten and starch contents of wheat subjected to water deficit stress. Not Bot Horti Agrobo 41:201–207.

Jiang., H, Li, M., Chang, F., Li., W. and Yin., L., 2012 Physiological Analysis of Silver Nanoparticles and AgNO₃ Toxicity to *Spirodela Polyrhiza*, Environ Toxicol Chem. Aug;31(8):1880-6.

Jiang, H.S., Li, M., Chang, F.Y., Li, W. And Yin, L.Y., 2012, Physiological analysis of silver nanoparticles and AgNO₃ toxicity to *Spirodela polyrhiza*. Environ Toxicol Chem 31:1880–1886.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Jinghua., G., 2004 Synchrotron radiation, soft X-ray spectroscopy and nano-materials. J Nanotechnol 1:193–225.

Jo, J.H., et al. 2015 Pseudomonas deceptionensis DC5-mediated synthesis of extracellular silver nanoparticles. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. Published online July 31.

Joaquim, T.R. and **Rowe**, R.C., 1990. Reassessment of vegetative compatibility relationships among strains of Verticillium dahliae using nitrate-nonutilizing mutants. Phytopathology, 80: 1160-1166.

Keller, A.A., **McFerran** S., **Lazareva** A. And **Suh** S. 2013, Global life cycle releases of engineered nanomaterials.J Nanopart Res 15.

Khodakovskaya, M.V., **de Silva**, K., **Biris**, A.S., **Dervishi**, E., **Villagarcia**, H., 2012, Carbon nanotubes induce growth enhancement of tobacco cells. ACS Nano 6(3):2128–2135.

Kim, S.W.,**Jung**, J.H., **Lamsal**, K., 2012, Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. Mycobiol 40:53–58.

Kirschbaum M.U.F ., 2011, Does enhanced photosynthesis enhance growth? lessons learned from CO2 enrichment studies. Plant Physiol 155:117–124.

Kottegoda, N., **Munaweera**, I. and **Madusanka**, N., 2011 A green slow-release fertilizer composition based on urea-modified hydroxyapatite nanoparticles encapsulated wood. Curr Sci 101(1):73–78.

Kumar, V., **Yadav**, S.C. and **Yadav** S., 2010. Syzygium cumini leaf and seed extract mediated biosynthesis of silver nanoparticles and their characterization, Journal of Chemical Technology & Biotechnology, October 85(10):1301-1309.

Kuzma, J., **VerHage**, P., 2006, Nanotechnology in Agriculture and FoodProduction. Woodrow Wilson International Center for Scholars, Washington, DC, pp. 1–42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Lee., Woo-Mi, **KWAK.**, Jin, AN., **Youn-Joo**, Effect of silver nanoparticles in crop plants *Phaseolus radiatus* and *Sorghum bicolor*: Media effect on phytotoxicity, 2011, *Nanomaterials* (Basel). Jun; 4(2): 301–318.

Levine, A., **Tenhaken** R, **Dixon** R, et al. H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell*, 1994, 79: 583–593

Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.

Lichtenthaler, H. K., **Hak**, R., and **Rinderle**, U. (1990). The chlorophyll fluorescence ratio F₆₉₀/F₇₃₀ in leaves of different chlorophyll content. *Photosynthesis Research*, 25(3), 295–298.

Liu, X.M., **Feng**, Z.B., **Zhang**, F.D., **Zhang** S.Q., and He, X.S., 2006, Preparation and testing of cementing and coating nano-subnanocomposites of slow/controlled-release fertilizer. *Agric. Sci. Chin.*, 5: 700-706.,

Logeswari, P., **Silambarasan**, S. and **Abraham**, J., 2013 Ecofriendly synthesis of silver nanoparticles from commercially available plant powders and their antibacterial properties. *Scientia Iranica F* 20:1049–1054.

Lopez-Serrano, A., **Olivas** R. M., **Landaluze** J. S., Camara C. 2014 Nanoparticles: a global vision. Characterization, separation, and quantification methods. Potential environmental and health impact. *Anal. Methods* 6, 38–56.

Ma, C., **Chhikara**, S., **Minocha**, R., **Long**, S., **Musante**, C., **White**, J.C., **Xing**, B. and **Dhankher**, O., 2015, Parkash Reduced Silver Nanoparticle Phytotoxicity in *Crambe abyssinica* with Enhanced Glutathione Production by Overexpressing Bacterial γ -Glutamylcysteine Synthase, *Environ. Sci. Technol.* Vol. 49:16, 10117-10126

Ma, L., **Liu**, C., **Qu**, C., **Yin**, S., **Liu**, J., **Gao**, F., **Hong**, F., 2008, Rubisco activase mRNA expression in spinach: modulation by nanoanatase treatment. *Biol Trace Elem Res* 122(2):168–178.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y. and Kolmakov, A., 2010 Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation, *Sci Total Environ.* Jul 15;408(16):3053-61.

Mendes, J.E., L. Abrunhosa, J.A. Taxieria, E.R. De Camargo, C.P. Souza and J.D.C. Pessoa. 2014. Antifungal activity of silver colodial nanoparticles against phytopathogenic fungi (*Phomopsis* sp.) in soybean seeds. *Int. J. Biol. Vet. Agric. Food Eng.* 8:928-933.

Mihrianyan, A., Ferraz, N. and Strømme, M., 2012. Current status and future prospects of nanotechnology in cosmetics. *Progress in Materials Science*, 16 September, 57 pp.875–910.

Mobesser, S. ve Firoozi A. A., 2016, Review of Nanotechnology Applications in Science and Engineering. Department of Civil & Structural Engineering, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM), Selangor, Bangi, 43650, Malaysia. *Journal of Civil Engineering and Urbanism* Volume 6, Issue 4: 84-93; July 25.

Mukal, D., Sexena, N. and Dwivedi, P.D., 2009, Emerging trends of nanoparticles application in food technology: Safety paradigms. *Nanotoxicology* 3, 10–18.

Nemli, T., 2003. Pamuk Hastalıkları ve Savaşım Yöntemleri. Pamukta Eğitim Semineri, 14-17 Ekim, İzmir, s. 103-111.

Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L. and Dewez, D., 2012, Silver Nanoparticle Toxicity Effect On Growth And Cellular Viability Of The Aquatic Plant *Lemna gibba*, *Environ Toxicol Chem.* Apr;32(4):902-7

Paschoalino, M.P., Marcone, G.P. S. and Jardim, W.F., 2010. Os nanomateriais e a questão ambiental. *Quim. Nova*, 33(2): 421-430.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Salamanca-Buentello, F., Persad, D.L., Court, E.B., Martin, D.K., Daar, A.S., Singer PA 2005, Nanotechnology and the Developing World. PLoS Med 2(5): e97.

Schnathorst, W.C. and Cooper, J.R., 1975. Anomalies in Field and Greenhouse Reaction of Certain Cotton Cultivars in Fected with *Verticillium dahliae*. In Proc. Beltwide Cotton Prod. Conf., 6-8 January, New Orleans, National Cotton Council, Memphis, p. 148-149.

Sergiev, I., Alexieva, V. and Karanov, E., 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. Compt Rend Acad Bulg Sci, 51(3), pp.121-124.

Sezgin, E., 1985. Pamuk Solgunluk Hastalığı İle Savaşımında Kültürel İşlemlerin Önemi, T.B.K. Koruma Kontrol Gn. Müd. Yıllığı, 3:3, 23–31.

Shams, G., Ranjbar, M. and Amiri, A., 2013, Effect of silver nanoparticles on concentration of silver heavy element and growth indexes in cucumber (*Cucumis sativus* L. negeen), Journal of Nanoparticle Research May, 15:1630.

Siddiqui, M.H. and Al-Whaibi, M.H. 2015, Nanotechnology and Plant Sciences Nanoparticles and Their Impact on Plants. Springer International Publishing Switzerland.

Singh, P. et al., 2015 A strategic approach for rapid synthesis of gold and silver nanoparticles by *Panax ginseng* leaves. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.

Singh, P., et al. (2015) *Weissella oryzae* DC6-facilitated green synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial potential. Artif. Cells Nanomed. Biotechnol. Published online July 27,

Six, J., Feller, C. and Denef, K., 2002 Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils—effects of no-tillage. Agronomie 22:755–775.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Tani, E., Kizis, D., Markellou, E., Papadakis, I., Tsamadia, D., Leventis G., Makrogianni D. and Karapanos I., 2018, Cultivar-Dependent Responses of Eggplant (*Solanum melongena* L.) to Simultaneous *Verticillium dahliae* Infection and Drought. *Front Plant Sci.* 2018 Aug 13;9:1181.

Vance, M.E, Kuiken, T. ve Vejerano, E.P., 2015, Nanotechnology in the real world: redeveloping the nanomaterial consumer products inventory. *Beilstein J Nanotech.* 6:1769–1780.

Vannini, C., Domingo, G., Onelli, E., Prinsi, B., Marsoni, M., Espen, L. And Bracale, M., Morphological and Proteomic Responses of *Eruca sativa* Exposed to Silver Nanoparticles or Silver Nitrate, *PLoS One.* 2013 Jul 18;8(7).

Varshney, H.M. ve Shailender, M., 2012, “Nanotechnology” Current Status In Pharmaceutical Science: A Review. Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Jaipur College of Pharmacy, Jaipur, Rajasthan-India. *International Journal of Therapeutic Applications*, Volume 6, 14 - 24.

Waghmare, S.R. 2015 Ecofriendly production of silver nanoparticles using *Candida utilis* and its mechanistic action against pathogenic microorganisms. *3 Biotech* 5, 33–38.

Werner, M., Kohly. W. and Simic, M., 2008, Nanotechnologies in Automobiles – Innovative potentials in Hesse for the Automotive Industries and its Subcontractors, vol. 3.

Wilhelm, S., 1955. Longevity of the *verticillium* wilt fungus in the laboratory and field. *Phytopathology* 45:180–181.

Xiao, C.L., Subbaro, K.V., Schulbach, K.F., Koike, S.T. 1998. Effect of Crop Rotation and Irrigation on *Verticillium dahliae* Microsclerotia in Soil and Wilt in Cauliflower. *Phytopathology*, 88, 1046-1055.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam)

Yılmaz, İ., 2010, Karatenoidler. İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Malatya. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 17 (3) 223-231.

Zheng ,L., Hong, F., Lu. S., Liu, C. 2005 Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. Biol Trace Elem Res 104(1):83–91.



TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans öğrenim hayatım boyunca bilgi aktarımını esirgemeyen, bu süreç içinde bana ve arkadaşlarıma birçok katkıda bulunan fedakâr tez danışmanım Prof. Dr. Lale AKTAŞ’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim hayatım boyunca benden hiçbir desteği esirgemeyen, kararlarıma destek veren babam Hasan ÇOKIŞLEREL, sürekli yanımda olan annem Merih ÇOKIŞLEREL ve ablam Vildan ÇOKIŞLEREL’e çok teşekkür ederim. Bu süreç içerisinde yüksek lisans eğitimine aynı dönemde beraber başladığım sevgili arkadaşım Melisa AYIŞIĞIN’a, denemelerimde, sorunlarımda bana destek olan Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU ve Nihan BÖREKÇİ’ye ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Zeynep İnci KOÇER ve Buse FİLİZLER’e laboratuvarımızın yeni üyesi Selin HASEKİ’ye son olarak, tez çalışmamda benimle bilgilerini paylaşan ve destek olan Pervin GÜNTÜRKÜN’e teşekkürlerimi sunarım

ÖZGEÇMİŞ

E-posta : alp.cokislerel@hotmail.com

Doğum tarihi : 24 / 12 / 1992

Eğitim Bilgileri

2015-2019 : Ege Üniversitesi / İzmir

Yüksek Lisans (M. Sc.)

Biyoloji / Botanik

2010-2015 : Ege Üniversitesi / İzmir

Lisans Biyoloji / Botanik

2006-2010 : Ramazan Atıl Lisesi / ADANA

Staj

2014- İLKNAK Su ürünleri- ÇANDARLI / İzmir

Yabancı Diller

İngilizce Intermediate

Bilgisayar

MS Office, SPSS

Katıldığım Topluluklar

Ege Üniversitesi Latin Dansları Topluluğu

Yayınlar

Aktas, L.Y., Cokislerel, A., Ayisigi, M., Guntunkun, P., Gurel, A. Using phytosynthesized silver nanoparticles from *Laurus nobilis* extract to control wilting disease factor, *Verticillium dahliae* 8th International Advanced Technologies Symposium (IATS'17) 19-21 October 2017 (Sözlü Bildiri).

M. AYISIGI, Y. KUCUKCOBANOGU, A. COKİSLEREL, S. HASEKI, Z. I. KOCER, T. YALCIN, V. VELIKOVA, L. Y. AKTAS. Agricultural Applications of Green Synthesized Silver Nanoparticles. II. International Green Biotechnology Congress. (Sözlü Bildiri olarak hazırlandı)