



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



**KAMAN 1 CEVİZ ÇEŞİDİ (*Juglans regia* L.)
YAPRAK EKSTRAKTLARININ
FİTOKİMYASAL BİLEŞENLERİ VE
ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

KÜBRA CENGİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KIRŞEHİR
2026**



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI



KAMAN 1 CEVİZ ÇEŞİDİ (*Juglans regia* L.)
YAPRAK EKSTRAKTLARININ
FİTOKİMYASAL BİLEŞENLERİ VE
ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ

KÜBRA CENGİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ YUSUF BAYAR

KIRŞEHİR
2026

KIRŞEHİR AHİ EVRAN ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI
ETİK BEYANI

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini okuduğumu ve anladığımı ve Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Tez olarak sunduğum bu çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda bu konuda hakkımda yapılacak tüm yasal işlemleri ve aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

24 / 06 /2026

Öğrenci

Kübra CENGİZ

İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	I
TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TABLolar DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ceviz (<i>Juglans regia</i> L.) Yetiştiriciliği ve Önemi	1
1.2. Patojenler Hakkında Genel Bilgiler.....	4
1.3. Problem Durumu	7
1.4. Tezin Amacı	8
1.5. Tezin Önemi	8
1.6. Çalışmanın Sınırlılıkları	9
1.7. Varsayımlar	10
1.8. Araştırma Problemleri	11
1.9. Araştırmanın Hipotezi	11
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Ceviz (<i>Juglans regia</i>) Ekstraktlarının Fitokimyasal ve Fenolik İçeriğine Yönelik Çalışmalar	13
2.2. Ceviz Ekstraktlarının Fitopatojen Funguslara Karşı Antifungal Etkinliği Üzerine Çalışmalar	15
2.3. Ceviz Ekstraktlarının Genel Antimikrobiyal ve Klinik Çalışmalardaki Yeri.....	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Bitkisel materyal (Ceviz Yaprakları).....	21
3.1.2. Fungal materyaller.....	22
3.1.3. Reaktifler, çözeltiler ve standartlar.....	23
3.2. Metot	24
3.2.1. Bitki ekstraksiyonu işlemleri.....	25
3.2.2. LC-ESI-MS/MS tabanlı fitokimyasal kantifikasyon.....	26

3.2.3. <i>In Vitro</i> antifungal aktivite denemeleri.....	27
3.2.4. İstatistiksel analiz	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Belirlenen Fenolik Bileşikler (LC-ESI-MS/MS Analizi)	31
4.2. Antifungal Aktivite Sonuçları.....	34
4.2.1. Etanol ekstraktının antifungal aktivitesi.....	34
4.2.2. Metanol ekstraktının antifungal aktivitesi.....	37
4.2.3. Ekstraktların karşılaştırmalı etkinliği.....	41
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
6. KAYNAKLAR	47
EKLER	55
ÖZGEÇMİŞ	57

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim süresince akademik duruşuyla bana her zaman örnek olan, bu araştırma konusunu tez çalışması olarak yönlendiren ve sürecin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana rehberlik ederek akademik gelişimime büyük katkı sağlayan değerli danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın şekillenmesi ve bilimsel olarak nihai haline ulaşması sürecindeki değerli katkıları ve yönlendirmelerinden dolayı kıymetli jüri üyelerim Prof. Dr. Kadir AKAN ve Doç. Dr. Sabriye BELGÜZAR'a teşekkürlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Tez kapsamında incelenen bitkisel materyallerin Kırşehir ili Kaman ilçesi Yelek köyündeki arazi çalışmaları ve temini hususunda sağladığı önemli desteklerden dolayı Cevizbağı Organik Tarım İşletmesi yetkilisi Sayın Özcan KULAKSIZ'a ve eğitim hayatım boyunca manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen lisans ve yüksek lisans arkadaşım Fatma KISA'ya içtenlikle teşekkür ederim.

Haziran, 2026

Kübra CENGİZ

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAMAN 1 CEVİZ ÇEŞİDİ (*Juglans regia* L.) YAPRAK EKSTRAKTLARININ FİTOKİMYASAL BİLEŞENLERİ VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Kübra CENGİZ

KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR
Yıl: 2026 Sayfa: 57
Jüri: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf BAYAR
Prof. Dr. Kadir AKAN
Doç. Dr. Sabriye BELGÜZAR

Bu çalışmada, Türkiye'nin önemli yerel ceviz genotiplerinden biri olan 'Kaman 1' ceviz çeşidinin (*Juglans regia* L.) yapraklarından elde edilen ekstraktların fitokimyasal yapısı ile antifungal etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Araştırmanın temel hedefi, bitkisel üretimde kullanılabilecek doğal ve çevre dostu bir biyokontrol alternatifi geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Fitokimyasal bileşenlerin belirlenmesi amacıyla yüksek duyarlılığa sahip LC-ESI-MS/MS analiz yöntemi kullanılmıştır. Yapılan analizlerde, taranan 30 fenolik standart arasından 9 farklı biyoaktif bileşik tespit edilmiştir. Belirlenen bileşikler içerisinde kateşin (976,388 µg/g), luteolin-7-glikozit (211,187 µg/g) ve taksifolin (142,929 µg/g) en yüksek miktarlarda bulunan bileşenler olarak öne çıkmıştır. Bu sonuçlar, 'Kaman 1' ceviz çeşidi yapraklarının önemli düzeyde flavonoid ve fenolik bileşik içerdiğini göstermektedir. Ekstraktların biyolojik aktiviteleri, bitkisel üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına yol açan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* fungal etmenlerine karşı laboratuvar koşullarında değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular hem metanol hem de etanol ekstraktlarının, uygulanan konsantrasyon ve patojen türüne bağlı olarak fungal gelişimi anlamlı düzeyde engelleyebildiğini ortaya koymuştur. Özellikle metanol ekstraktı *P. infestans* üzerinde %82,40, etanol ekstraktı ise %79,95 oranında miselyal gelişim inhibisyonu sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar, 'Kaman 1' ceviz çeşidi yapraklarının yalnızca zengin bir fitokimyasal içeriğe sahip olmadığını, aynı zamanda önemli bazı bitki patojenlerine karşı etkili bir doğal mücadele aracı olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, 'Kaman 1' ceviz çeşidi yaprağı ekstraktları; güçlü biyolojik aktivitesi, doğal kökeni ve çevreye duyarlı yapısı sayesinde sentetik fungisitlere alternatif oluşturabilecek potansiyele sahip umut verici bir biyofungisit adayı olarak değerlendirilebilir. Bu yönüyle çalışma, sürdürülebilir bitkisel üretim uygulamalarına katkı sağlayabilecek önemli bulgular sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Antifungal aktivite, Biyofungisit, Biyokontrol, Fitokimyasal içerik, 'Kaman 1' cevizi, LC-ESI-MS/MS

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

DETERMINATION OF THE PHYTOCHEMICAL COMPONENTS AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF LEAF EXTRACTS FROM THE KAMAN 1 WALNUT VARIETY (*Juglans regia* L.)

Kübra CENGİZ

KIRŞEHİR AHİ EVRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF PLANT PROTECTION

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yusuf BAYAR
Year: 2026, Pages: 57
Juries: Assist. Prof. Dr. Yusuf BAYAR
Prof. Dr. Kadir AKAN
Assoc. Prof. Dr. Sabriye BELGÜZAR

This study aimed to reveal the phytochemical composition and antifungal effects of extracts obtained from the leaves of the Kaman 1 walnut variety (*Juglans regia* L.), one of the important local walnut genotypes of Türkiye. The primary objective of the research is to contribute to the development of a natural and eco-friendly biocontrol alternative that can be used in plant production. The highly sensitive LC-ESI-MS/MS analysis method was used to determine the phytochemical components. In the analyses conducted, 9 different bioactive compounds were identified among the 30 phenolic standards screened. Among the identified compounds, catechin (976.388 µg/g), luteolin-7-glucoside (211.187 µg/g), and taxifolin (142.929 µg/g) stood out as the components present in the highest amounts. These results indicate that Kaman 1 walnut leaves contain significant levels of flavonoid and phenolic compounds. The biological activities of the extracts were evaluated under laboratory conditions against fungal agents *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena*, and *Phytophthora infestans* which cause severe yield and quality losses in agricultural production. The findings revealed that both methanol and ethanol extracts significantly suppressed fungal growth depending on the applied concentration and pathogen species. Specifically, the methanol extract provided a mycelial growth inhibition of 82.40% on *P. infestans*, while the ethanol extract provided a 79.95% inhibition. The obtained results demonstrate that Kaman 1 walnut leaves not only possess a rich phytochemical content but can also serve as an effective natural control agent against some important plant pathogens. In conclusion, thanks to their strong biological activity, natural origin, and eco-friendly nature, Kaman 1 walnut leaf extracts can be evaluated as a promising biofungicide candidate with the potential to serve as an alternative to synthetic fungicides. In this respect, the study presents important findings that can contribute to sustainable plant production practices.

Keywords: Antifungal activity, Biofungicide, Biocontrol, Phytochemical content, Kaman 1 walnut, LC-ESI-MS/MS

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.1. 2024 yılı küresel kabuklu ceviz üretim alanları, üretim miktarları, verim ve karakteristik özellikleri analizi	2
Tablo 1.2. Türkiye düzeyi 2025 yılı kabuklu ceviz üretiminde en yüksek rekolteye sahip ilk 10 il analizi	3
Tablo 3.1. Kırşehir ili Kaman ilçesinden toplanan bitki materyalinin lokasyon bilgileri.....	22
Tablo 4.1. LC-ESI-MS/MS ile belirlenen ‘Kaman 1’ MeOH (Metanol) ekstraktlarının kantitatif analizi	32
Tablo 4.2. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi.....	35
Tablo 4.3. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi öldürücü doz (LC ₅₀) değerleri (mg/mL).....	36
Tablo 4.4. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi.....	38
Tablo 4.5. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı öldürücü doz (LC ₅₀) değerleri (mg/mL)	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3.1. Bitki materyalinin toplandığı ağacın ve yaprakların genel görünümü	22
Şekil 3.2. KAEÜ fitoklinik laboratuvarlarında PDA dökümü (A), fungus ekimi (B), ekimleri yapılmış hastalık etmenleri (C)	23
Şekil 3.3. Toplanan bitki materyali ve bitki ekstraksiyonu işlemleri.....	26
Şekil 3.4. Ekstrakt dozları ayarlanmış etanollü falkon tüpleri (A), ekstrakt dozları ayarlanmış metanollü falkon tüpleri (B), dozları ayarlanmış falkon tüplerine DMSO eklenmesi (C).....	28
Şekil 4.1. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı miselyum gelişimi üzerine etkisi ...	35
Şekil 4.2. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı miselyum gelişimi üzerine etkisi.	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
<i>Dt</i>	: Ekstrakt Uygulanan Grupta Ölçülen Koloni Çapı
<i>G</i>	: Gram
<i>v/v</i>	: Hacim / Hacim
<i>Kcal</i>	: Kilocalorie (kilokalori)
<i>Kg</i>	: Kilogram
<i>kg/ha</i>	: Kilogram / Hektar
<i>L</i>	: Litre
<i>Mm</i>	: Milimetre
<i>I (%)</i>	: Miselyal Gelişim İnhibisyon Oranı
<i>Dc</i>	: Negatif Kontrol Grubunda Ölçülen Koloni Çapı
<i>T</i>	: Ton

Kisaltmalar	Açıklama
AA	: <i>Alternaria alternata</i>
ANOVA	: Analysis of Variance (Varyans Analizi)
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
FOM	: <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>Melonis</i>
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Gaz Kromatografisi - Kütle Spektrometrisi)
HPLC	: High-Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
KAEÜ	: Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
CHCl₃	: Kloroform
LC₅₀	: Lethal Concentration ₅₀ (Öldürücü Konsantrasyon ₅₀)
MeOH	: Metanol
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MF	: <i>Monilinia fructigena</i>
PDA	: Patates Dekstroz Agar

Kısaltmalar	Açıklama
FF	: <i>Phytophthora infestans</i>
LC-ESI-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi-Elektrosprey İyonizasyon-Tandem Kütle Spektrometrisi
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler İçin İstatistik Paketi)
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

1. GİRİŞ

İnsanlığın tarımsal faaliyetlerle tanıştığı ilk dönemlerden günümüze kadar bitkisel üretim, beslenme ve ekonomik kalkınmanın temel unsurlarından biri olmuştur. Meyve ve sebzeler, insanların yanı sıra hayvanların beslenmesinde de kritik bir rol oynamakta olup, yüksek besin değerleri nedeniyle her dönemde ön plana çıkmıştır. Bu ürün grupları içerisinde sert kabuklu meyveler hem besleyici özellikleri hem de ticari değerleri nedeniyle dikkat çekmektedir.

Sert kabuklu meyveler arasında yer alan ceviz, dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilen ve tüketilen önemli bir türdür. Botanik olarak ceviz, Dicotyledoneae (çift çenekliler) sınıfı içerisinde Juglandales takımına, Juglandaceae familyasına ve *Juglans* cinsine dahildir. *Juglans* cinsi kapsamında yaklaşık 25 farklı tür tanımlanmış olmakla birlikte, meyve kalitesi, verim potansiyeli ve ekonomik değeri bakımından en fazla yetiştirilen türün *Juglans regia* olduğu bildirilmektedir (Çoban, 2023).

1.1. Ceviz (*Juglans regia* L.) Yetiştiriciliği ve Önemi

Cevizin kökeni ve doğal yayılış alanı konusunda araştırmacılar arasında farklı görüşler bulunmaktadır. Bazı çalışmalar, türün ana vatanının İran'ın Gilan bölgesi olduğunu belirtirken, bazı araştırmacılar ise cevizin kökeninin Çin'e dayandığını ileri sürmektedir. Bununla birlikte, günümüzde daha yaygın kabul gören görüşe göre ceviz; Karpat Dağları'ndan başlayarak Türkiye, Irak, İran, Afganistan, Güney Rusya, Hindistan, Mançurya ve Kore'ye kadar uzanan geniş bir coğrafyada doğal olarak yayılış göstermektedir (Kaplukan, 2015).

Tablo 1.1. verileri incelendiğinde, küresel ceviz (*Juglans regia* L.) yetiştiriciliğinde hasat alanı ile birim alandan elde edilen verim arasında çarpıcı bir asimetri bulunduğu görülmektedir. Çin, yaklaşık 425.000 hektarlık devasa üretim alanıyla toplam rekoltede ilk sırada yer almasına rağmen, 1.754,85 kg/ha verim oranıyla entansif üretim yapan ülkelerin oldukça gerisinde kalmıştır. Buna karşın Amerika Birleşik Devletleri, Çin'in neredeyse üçte biri kadar alanda (148.500 ha) üretim yapmasına rağmen, hektar başına 2.834,51 kg/ha gibi yüksek bir verimle küresel ihracat liderliğini üstlenmiştir. En dikkat çekici karşılaştırmalardan biri de 162.000 hektar ile ABD'den daha geniş üretim alanına sahip olan İran'ın', düşük verim (1.632,82 kg/ha) nedeniyle üretimde geride kalmasıdır. Türkiye, 92.300 hektarlık alan ve 2.038,80 kg/ha verim ortalamasıyla, modern kapama bahçe yatırımlarının etkisiyle %4,33'lük küresel

paya ulaşarak dördüncü sıradaki stratejik konumunu korumaktadır. Öte yandan, Hindistan (3.381,94 kg/ha) ve küresel mevsim avantajını kullanan Şili (3.316,74 kg/ha), sınırlı üretim alanlarından elde ettikleri olağanüstü yüksek verim oranlarıyla küresel pazardaki en efektif bitkisel üretim modellerini sergilemektedir (FAO, 2024).

Tablo 1.1. 2024 yılı küresel kabuklu ceviz üretim alanları, üretim miktarları, verim ve karakteristik özellikleri analizi (FAO, 2024)

SN	Ülke / Bölge Havzası	Hasat Edilen Alan (ha)	Toplam Üretim Miktarı (t)	Ortalama Birim Verim (kg/ha)	Küresel Üretim Payı (%)	Toplam İçinde Üretim Payı (%)	Karakteristik Üretim Özelliği
1	Çin (Anakara)	425.000	745.813,84	1.754,85	%17,15	%36,05	Doğu Asya Makro Üretim Havzası / En Büyük Küresel Arz Kaynağı
2	Amerika Birleşik Devletleri	148.500	420.925,33	2.834,51	%9,68	%20,35	Entansif Kaliforniya Üretim Kuşağı / Küresel İhracat Lideri
3	İran İslam Cumhuriyeti	162.000	264.517,04	1.632,82	%6,08	%12,79	Geniş Genetik Çeşitlilik Havzası / Yüksek Yerel Tüketim Oranı
4	Türkiye	92.300	188.181,55	2.038,80	%4,33	%9,10	Geleneksel Üretim ve Artan Kapama Bahçe Yatırımları
5	Hindistan	41.200	139.336,12	3.381,94	%3,20	%6,73	Güney Asya Bölgesel Tedarik Havzası
6	Burkina Faso	68.000	115.402,51	1.697,09	%2,65	%5,58	Batı Afrika Niş Orman Ürünleri ve Yağlı Tohum Çeşitliliği
7	Meksika	38.500	96.076,39	2.495,49	%2,21	%4,64	Kuzey Amerika Entegre Pazar Odaklı Yetiştiricilik
8	Şili	18.200	60.364,68	3.316,74	%1,39	%2,92	Güney Yarımküre / Karşı Mevsim Avantajlı Stratejik İhracat
9	Ukrayna	23.100	45.210,00	1.957,14	%1,04	%2,18	Doğu Avrupa Havzası / Geleneksel Küçük Ölçekli Üretim
10	Romanya	21.400	37.906,52	1.771,33	%0,87	%1,83	Avrupa Birliği Geleneksel Kırsal Yetiştiricilik Bölgesi
-	Diğer Ülkeler	361.557	1.780.429,38	4.924,34	%40,94	-	Dünyanın Geri Kalan Diğer Üretici Bölgeleri
-	Küresel Toplam	1.399.757	4.349.163,36	3.107,10	%100,00	-	Küresel Toplam Makro Veri Havzası

Tablo 1.2. verileri incelendiğinde, Türkiye’de kabuklu ceviz (*Juglans regia*) yetiştiriciliğinin tıpkı küresel pazarda olduğu gibi belirli lokomotif bölgelerde yoğunlaşan asimetrik bir yapı sergilediği görülmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK, 2025) verilerine göre 263.430 tona ulaşan ulusal üretimin zirvesinde, 1.314.487 meyve veren ağaç varlığı, 18.240,00 tonluk rekolte ve %6,92’lik pazar payı ile Denizli yer almaktadır. Denizli’yi, özellikle meyve vermeyen genç ağaç sayısındaki rekor seviyesiyle (907.444 adet) dikkat çeken ve gelecekteki yoğun kapama bahçe yatırımlarının güçlü bir göstergesi

olan Bursa (11.110,00 ton; %4,22) izlemektedir. İstatistiklerdeki en çarpıcı karşılaştırmalardan biri ise ağaç başı verim ile mekanizasyon ilişkisini açıkça ortaya koymaktadır. Mersin, 992.610 adet meyve veren yaşlı ağaç varlığına rağmen 5.564,00 ton üretimde kalırken; Tekirdağ yalnızca 624.800 adet meyve veren ağaçla yüksek mekanizasyon avantajını kullanarak 7.378 tonluk çok daha yüksek bir rekolteye ulaşmış ve dördüncü sıraya yerleşmiştir. Türkiye genelindeki diğer 71 ilin toplam üretimdeki payının %56,51’de kalması, ulusal ceviz arzının ve ticari büyümenin ilk 10 ildeki bu entansif ve nitelikli yetiştiricilik potansiyeline doğrudan bağlı olduğunu göstermektedir (TÜİK, 2025).

Tablo 1.2. Türkiye düzeyi 2025 yılı kabuklu ceviz üretiminde en yüksek rekolteye sahip ilk 10 il analizi (TÜİK, 2025)

SN	İl	Meyve Veren Yaşta Ağaç Sayısı (Adet)	Meyve Vermeyen Yaşta Ağaç Sayısı (Adet)	Toplam Üretim Miktarı (Ton)	Ulusal Üretim Payı (%)	Karakteristik Üretim Özelliği
1	Denizli	1.314.487	866.875	18.240,00	%6,92	Ege Bölgesi / Türkiye'nin En Büyük Lokomotif Üretim Havzası
2	Bursa	846.069	907.444	11.110,00	%4,22	Marmara Bölgesi / Genç Plantasyon ve Yoğun Kapama Bahçe Yatırımları
3	Kahramanmaraş	628.730	466.412	8.700,00	%3,30	Akdeniz Geçiş Kuşağı / Geleneksel Yetiştiricilik Modeli
4	Tekirdağ	624.800	465.028	7.378,00	%2,80	Trakya Havzası / Yüksek Tarımsal Mekanizasyon ve Birim Ağaç Verimi
5	Balıkesir	781.602	906.519	5.566,00	%2,11	Güney Marmara / Fidan Üretimi ve Ticari Bahçe Gelişim Bölgesi
6	Mersin	992.610	251.807	5.564,00	%2,11	Doğu Akdeniz / Yaşlı ve Meyve Veren Ağaç Popülasyonu Yoğun Alan
7	Manisa	534.472	159.969	5.348,00	%2,03	Batı Anadolu / Entegre Tarım ve Sanayi Odaklı Gelişen Havza
8	Çanakkale	547.228	236.408	4.592,00	%1,74	Kuzey Ege-Marmara Geçisi / Nitelikli Standart Çeşit Dağılımı
9	Konya	411.118	498.000	4.306,00	%1,63	İç Anadolu Kuşağı / Geniş Düzluklerde Kurulan Yeni Yatırım Alanları
10	Sakarya	322.763	127.380	3.874,00	%1,47	Kuzeybatı Anadolu / Mikroklimal Nemli İklim Yetiştiriciliği
Diğer İller Toplamı		12.728.140	8.868.274	148.872,00	%56,51	Türkiye Genelindeki Diğer 71 İlin Üretim Toplamı
Türkiye (TR)	Geneli	19.688.066	13.641.444	263.430,00	%100,00	Ulusal Makro Üretim ve Ağaç Varlığı Toplamı

Beslenme yönüyle değerli bir ürün olan cevizin, zengin kimyasal içeriği sayesinde insan sağlığı üzerinde önemli etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Ceviz içinin ortalama bileşimi incelendiğinde %3,5 su, %15-30 protein, %55-77 yağ, %1,5-3 kül ve %5-15 oranında karbonhidrat içerdiği rapor edilmiştir. Ayrıca kalsiyum, fosfor, magnezyum,

demir, sodyum ve potasyum gibi mineraller bakımından zengin bir kaynak olup; A, B1, B2, B6 ve C vitaminlerini de içermektedir. Yaklaşık 1 kg ceviz içinin 7.000 kcal enerji sağlaması, bu meyvenin yüksek besin değerini ortaya koymaktadır (Budak, 2010).

Ceviz farklı endüstriyel alanlarda da değerlendirilmektedir. Çerez olarak tüketilmesinin yanında pasta, bisküvi, reçel, helva ve pestil gibi birçok gıda ürününün üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra ceviz yağı boya, parfüm, plastik, kauçuk ve ilaç sanayisinde kullanım alanı bulurken, ceviz odunu ise kaliteli yapısı nedeniyle mobilya ve oymacılık sektöründe tercih edilmektedir (Budak, 2010).

Türkiye'nin önemli ceviz üretim merkezlerinden biri olan Kırşehir'in Kaman ilçesi, yerel koşullara uyum sağlamış ceviz çeşitlerinin geliştirilmesinde önemli bir yere sahiptir. Bölgede uzun yıllar boyunca yürütülen seleksiyon çalışmaları sonucunda geliştirilen 'Kaman 1' çeşidi, sahip olduğu verim ve kalite özellikleriyle dikkat çekmektedir. Bu çeşitte başarılı bir tozlanma ve yüksek meyve tutumu sağlanabilmesi için 'Kaman-4', 'Franquette', 'Bilecik', 'Pedro', 'Van-6' ve 'Şen-2' gibi uygun tozlayıcı çeşitlerle birlikte yetiştirilmesi önerilmektedir (Canlıhoş ve ark., 2014).

Pomolojik özellikler açısından değerlendirildiğinde 'Kaman 1' çeşidinin ortalama meyve ağırlığının 11,00 g, iç ağırlığının ise yaklaşık 5,30 g olduğu belirlenmiştir. Yaklaşık %48,1 iç randımanına ve %65 yağ oranına sahip olması, bu çeşidi özellikle kuru tüketim açısından değerli kılmaktadır. Hasadı genellikle eylül ayının sonlarında yapılmakta olup meyveler çoğunlukla 4'lü, 8'li veya 12'li gruplar halinde oluşmaktadır. Hastalık ve zararlılara karşı reaksiyonları bakımından değerlendirildiğinde ise özellikle antraknoz başta olmak üzere farklı fitopatojen fungal hastalıklara ve ceviz iç kurduna karşı toleranslı olduğu bildirilmektedir (Kaplukan, 2015).

'Kaman 1' çeşidinin önemli avantajlarından biri de yan tomurcuklarının yaklaşık %90'ının meyve verebilmesidir. Bu özellik, çeşidin verim potansiyelini önemli ölçüde artırmaktadır (Kaplukan, 2015). Ayrıca verim verme özelliği ve yüksek adaptasyon kabiliyeti, 'Kaman 1' çeşidinin üreticiler tarafından tercih edilmesinde önemli rol oynamaktadır (Kaplukan, 2015; Çoban, 2020).

1.2.Patojenler Hakkında Genel Bilgiler

Alternaria alternata türü, Pleosporaceae dahil olan, yaygın olarak bitkilerde saprofit, endofit ve patojen olarak bulunabilen, çoğunlukla aseksüel üreyen küçük sporlu bir mantar grubudur; güncel sınıflamada *Alternaria cinsi* Ascomycota bölümü-Dothideomycetes sınıfı-Pleosporales takımı içinde yer almaktadır (DeMers, 2022;

Schmey ve ark., 2024). Bununla birlikte taksonomisi halen revize edilebilmekte olup morfolojik sınırlar net olmayıp, küçük sporlu türlerde klasik belirleme yöntemleri yeterli düzeyde tür ayrımını sağlayamayabilmekte ve bu nedenle çok lokuslu filogenetik ya da genom temelli yaklaşımlar daha güvenilir edilmektedir (DeMers, 2022; Vinogradova ve ark., 2026).

Tür, bitkilerde özellikle yaprak lekesi, kahverengi leke, meyve çürüklüğü ve hasat sonrası çürüme ile ilişkilidir; nekrotrofik belirtileri, konidilerin rüzgar ve yağmurla yayılması ve toksin üretimi, hastalık gelişimini ve yayılımını desteklemektedir (Logrieco ve ark., 2009; Schmey ve ark., 2024; Vinogradova ve ark., 2026). Ekonomik açıdan *A. alternata* ve yakın *Alternaria* türleri domates, patates, tahıllar, meyveler, süs bitkileri ve orman ağaçlarında verim ve kalite kaybına, depolama sırasında çürümeye ve mikotoksin birikimine yol açar; uygun koşullarda kayıplar %60-70'e çıkabilir, bazı Solanaceae (patlıcangiller) familyasına dahil bitki türlerinde ise *Alternaria* hastalık komplekslerinde %40-80 verim kaybı bildirilmiştir (Logrieco ve ark., 2009; Da Cruz Cabral ve ark., 2016; Vinogradova ve ark., 2026).

Fusarium oxysporum f. sp. *melonis* (Fom), taksonomik olarak *Fusarium* cinsine dahil, Ascomycota bölümü, Sordariomycetes sınıfı, Hypocreales takımı ve Nectriaceae familyası sınıflandırmasında yer alan *Fusarium oxysporum* tür kompleksinin konukçusuna özgü bir *forma specialis*'idir; *formae speciales* kavramı, *F. oxysporum* içindeki fungal etmen ırklarının morfolojik olarak aynı olan fungusları konukçu reaksiyonlarına göre ayırmak için geliştirilmiştir. Kabakgillerde (Cucurbitaceae) ekonomik olarak en önemli formlar arasında *F. oxysporum* f. sp. *melonis* (Fom), *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* ve *F. oxysporum* f. sp. *niveum* sayılır (Michielse ve Rep, 2009; Martyn ve Vakalounakis, 2017; Edel-Hermann ve Lecomte, 2019).

F. oxysporum f. sp. *melonis*, küresel düzeyde kavun üretimini olumsuz etkileyen, toprak kökenli bir vasküler solgunluk etmenidir. Patojen; mikrokonidi, makrokonidi ve klamidospor oluşturur. Toprakta uzun süre canlı kalabilen klamidosporlarla konukçusunun kök uçları, doğal açıklıklar veya yaralardan girerek ksilemi çoğalmaya başlar. Enfeksiyon sonrasında ilerleyen zamanla birlikte, iletim demetlerinin tıkanmasına bağlı olarak bitkide sararma, solma, bodurluk ve ölüme neden olmaktadır (Michielse ve Rep, 2009; Mahdikhani, 2016; Chai ve ark., 2025). Ekonomik açıdan *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, kavunda *Fusarium* solgunluğunun başlıca etmeni kabul edilir. Ve yıllık küresel ürün kaybı genellikle %10 ila %30 düzeyinde olmakla birlikte, hastalığın gelişimi için

uygun koşullarda bu zarar %100'e kadar çıkabilmektedir (Zhao ve ark., 2011; Engalycheva ve ark., 2025; Chai ve ark., 2025).

Monilinia fructigena (Pers.) Honey, Ascomycota bölümü içinde *Monilinia* cinsine dahil bir hastalık etmenidir. Kahverengi rklk/monilya etmenleri arasında *M. laxa* ve *M. fructicola* ile birlikte bilinmektedir (Spitaler ve ark., 2022; De Miccolis Angelini ve ark., 2022). Tr; zellikle *Malus*, *Pyrus* ve *Prunus* cinslerinde ek, sürgün ve dal yanıklığı ile kahverengi rklk belirtileri oluşturmaktadır. Ancak *M. fructigena*, en çok yumuşak çekirdekli meyvelerde primer olarak meyve rklğ ile ilişkilidir. Bununla birlikte hasat öncesi, depolama ve pazarlama sırasında ekonomik kayıplara yol açar (Spitaler ve ark., 2022; Golmohammadi ve ark., 2025).

Monilinia fructigena, diğer *Monilinia* türleri gibi mumyalaşmış meyvelerde ve odunsu dokudaki kanser lezyonlarında olumsuz şartlarda canlılığını korur ve uygun iklim koşullarında hızla gelişir ve bir vejetasyon döneminde birden fazla enfeksiyon döngüsü oluşturabilir (Golmohammadi ve ark., 2025). Hastalığın yol açtığı ekonomik kayıplar dikkat çekicidir. *M. fructigena*, Kafkasya coğrafyasının Karadeniz kıyılarında en yaygın ve en zararlı *Monilinia* türü olarak bildirilmiş, bazı bölgelerde meyvelerin %70'ini enfekte edebildiği rapor edilmiştir. Bu nedenle verim, kalite ve depolama kayıplarına neden olan başlıca hastalık etmenlerinden biri kabul edilmiştir (Spitaler ve ark., 2022; Golmohammadi ve ark., 2025).

Phytophthora cinsi Anton de Bary tarafından tanımlanmış olup cins yaklaşık 223 tür içermektedir (Abad ve ark., 2023; Brasier ve ark., 2022). *Phytophthora infestans* etmeni patates ve domates de daha fazla hastalık oluşturmakla birlikte diğer bazı Solanaceae familyasına dahil türlerde de hastalık oluşturabilen bir etmendir. Konuusunun yaprak, gövde ve yumruları enfekte ederek hızla yayılan geç yanıklık (mildiyö) oluşturur (Yuen, 2021; Ivanov ve ark., 2021).

Trn biyolojisinde eşeysiz inokulumu kışı patates yumrularında geçirebilir. Her iki eşey tipi birlikte bulunduğunda ise yapraklarda oluşan oosporlar toprakta birkaç yıl canlı kalabilir ve bu durum hem canlı bulunabilmeyi hem de genetik çeşitliliği artırabilmektedir (Yuen, 2021). Ekonomik olarak *P. infestans*, küresel bitkisel üretim için önemli ekonomik kayıplara neden olan etmenlerden biridir. Yalnızca doğrudan ürün kaybı ve mücadele maliyetlerinin yılda 3 milyar ABD dolarından fazla olduğu tahmin edilmektedir. Etmen günümüzde de patates üretimi ve sürdürülebilir gıda güvenliği yönüyle önemli bir tehdit oluşturmaya devam ettiği vurgulanmaktadır (Fry, 2008; Yuen, 2021; Brasier ve ark., 2022).

1.3. Problem Durumu

Bitkisel üretimde bitki hastalıkları, zararlılar ve yabancı otların neden olduğu verim ile kalite kayıplarını en aza indirmek amacıyla uzun yıllardır sentetik pestisitlerin kullanıldığı kimyasal mücadele yöntemleri yaygın olarak uygulanmaktadır. Bu kimyasal preparatlar, hızlı ve kısa vadede etkili sonuçları nedeniyle üreticiler tarafından sıklıkla tercih edilmektedir. Ancak, uygulanan pestisitlerin insan sağlığı, çevre ve ekosistem üzerinde çeşitli olumsuz etkiler oluşturduğu birçok bilimsel çalışmada açıkça ortaya konmuştur. Pestisitlerin bitkisel ürünlerde kalıntı bırakması, toprak ve su kaynaklarına geçerek çevresel kirliliğe yol açması ve atmosferik yollarla geniş alanlara taşınması, sürdürülebilir bitkisel üretim açısından oldukça önemli riskler barındırmaktadır.

Bunun yanı sıra, kimyasal mücadelede kullanılan bu sentetik maddeler yalnızca hedef alınan biyotik stres faktörleri üzerinde değil, aynı zamanda doğadaki faydalı böceklerle, toprağın verimliliğini sağlayan mikroorganizmalara ve diğer hedef dışı yararlı canlılara da zarar verebilmektedir. Bu durum ekolojik dengenin bozulmasına, biyolojik çeşitliliğin hızla azalmasına ve uzun dönem bitkisel üretim sistemlerinin sürdürülebilirliğinin dikkat çekici bir şekilde tehlikeye girmesine yol açmaktadır. Özellikle sistemik özellik gösteren bazı fungusitlerin bitki dokuları tarafından kolaylıkla absorbe edilmesi, bu kimyasalların hasat edilen nihai ürünlerde bulunma olasılığını artırmakta ve doğrudan gıda güvenliği açısından büyük sorunlar ortaya çıkarmaktadır.

Kimyasal mücadele uygulamalarına bağlı olarak ortaya çıkan bu küresel ve ekolojik sorunlar, günümüzde çevreye duyarlı ve sürdürülebilir bitkisel üretim uygulamalarının geliştirilmesini zorunlu hale getirmiştir. Bu kapsamda, sentetik pestisitlere alternatif olarak değerlendirilebilecek yeni nesil mücadele yöntemlerine yönelik araştırmalar büyük bir ivme kazanmıştır. Son yıllarda özellikle doğal kaynaklardan elde edilen, çevre dostu özelliklere sahip, insan sağlığı açısından güvenilir olan ve gıdalarda kalıntı problemi oluşturmeyan bitki ekstraktlarının kullanımı bilim dünyasında ilgi çekmektedir.

Bitki ekstraktları; içerdikleri fenolik bileşikler, alkaloidler, terpenoidler ve uçucu yağlar gibi biyolojik olarak aktif sekonder metabolitler sayesinde patojen mikroorganizmalara ve zararlılara karşı doğal bir savunma mekanizması olarak oldukça etkili olmaktadır. Ayrıca doğal bitki ekstraktlarının tarımsal mücadelede kullanılması, bozulan ekolojik dengenin yeniden tesis edilmesine katkı sağlarken, toprağın biyolojik yapısının korunmasına ve ekosistemin kesintisiz sürdürülebilirliğine destek olmaktadır. Bu yaklaşımlar doğrultusunda, bitkisel üretimde yalnızca verim artışına odaklanmak

yerine; ürün verimi ve kalitesinin artırılması, çevre ve insan sağlığının korunması ve uzun vadede sürdürülebilir üretim sisteminin oluşturulması hedeflenmektedir (Yavuz, 2010).

Bu hedefler ışığında ‘Kaman 1’ ceviz (*Juglans regia* L.) çeşidinin zengin fitokimyasal potansiyelinin araştırılması ve yapraklarından elde edilecek biyoaktif ekstraktların, önemli bitkisel ürün kayıplarına neden olan fitopatojen fungusların kontrolünde sentetik kimyasalların yerini alabilecek doğal bir alternatif olarak değerlendirilmesine yönelik duyulan gereksinim bu çalışmanın temel problem durumunu oluşturmaktadır.

1.4. Tezin Amacı

Bu tez çalışması, Türkiye’nin önemli yerel genetik kaynaklarından biri olan ‘Kaman 1’ ceviz çeşidinin yapraklarından elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının fitokimyasal özelliklerini ayrıntılı olarak ortaya koymayı amaçlamaktadır. Bu kapsamda, ekstraktların içerdiği fenolik ve diğer biyoaktif bileşiklerin yüksek hassasiyete sahip analitik yöntemler kullanılarak nicel olarak belirlenmesi hedeflenmiştir.

Çalışmanın bir diğer amacı ise, bitkisel üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan bazı fitopatojenlere karşı ‘Kaman 1’ ceviz çeşidinin yapraklarından elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının biyolojik etkinliğinin belirlemektir.. Bu doğrultuda, hazırlanan ekstraktların *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* etmenlerinin *in vitro* şartlarda miselyal gelişimi üzerindeki antifungal etkileri laboratuvar koşullarında değerlendirmektir.

Araştırma sonucunda elde edilecek verilerle, fenolik bileşikler bakımından zengin olduğu öngörülen ‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı metanol ve etanol ekstraktlarının bazı bitki hastalıklarıyla mücadelede kullanılabilirliği ortaya konulacak ve bu ekstraktların sentetik fungusitlere alternatif oluşturabilecek doğal bir biyofungisit adayı olup olmadığı bilimsel temelde değerlendirilecektir. Çalışma, sürdürülebilir bitkisel üretim uygulamalarına katkı sağlayabilecek çevre dostu ve doğal mücadele yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik önemli bilgiler sunmayı hedeflemektedir.

1.5. Tezin Önemi

Bitkisel üretimde hastalık ve zararlılarla mücadele amacıyla yaygın olarak kullanılan sentetik pestisitler, uzun yıllardır üretime önemli katkılar sağlamasına rağmen, çevre ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle günümüzde önemli

tartışmalara konu olmaktadır. Kimyasal mücadele sonrası oluşabilen kalıntı sorunları, çevresel kirlilik, biyolojik çeşitlilik üzerindeki baskılar ve direnç gelişimi gibi problemler, daha güvenli ve sürdürülebilir alternatiflerin araştırılmasını gerekli hale getirmiştir. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen, çevreyle uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen bileşikler, bitki koruma alanında giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Özellikle bitkilerin ürettiği sekonder metabolitler ve fenolik bileşikler, doğal biyofungisitlerin geliştirilmesinde önemli bir potansiyel sunmaktadır (Yavuz, 2010).

Türkiye'nin değerli yerel genetik kaynaklarından biri olan 'Kaman 1' ceviz çeşidi, yapraklarında bulunan zengin fitokimyasal içerik sayesinde doğal bitki koruma ürünlerinin geliştirilmesi açısından dikkat çekici bir materyal niteliğindedir. Bu nedenle mevcut çalışma, söz konusu fitopatojenlere karşı 'Kaman 1' çeşidi ceviz yaprağı ekstraktlarının antifungal etkinliğini kapsamlı biçimde ortaya koyması bakımından özgün bir değer taşımaktadır.

Araştırmanın bir diğer önemli yönü ise, 'Kaman 1' çeşidi ceviz yapraklarında bulunan fenolik ve diğer biyoaktif bileşenlerin LC-ESI-MS/MS gibi ileri düzey analitik yöntemler kullanılarak nicel olarak belirlenmesidir. Bu şekilde hem ceviz yapraklarının kimyasal profiline ilişkin mevcut bilgi birikimine katkı sağlanacak hem de konu hakkında veri eksikliğinin giderilmesine katkı sağlanacaktır.

1.6. Çalışmanın Sınırlılıkları

Yürütülen tez çalışmasının sınırları aşağıda gibidir:

- Kullanılan bitkisel materyal, Kırşehir ili Kaman ilçesine bağlı Yelek köyü sınırları içerisinde yer alan ceviz bahçesinden 3 Ağustos 2024 tarihinde temin edilen 'Kaman 1' ceviz çeşidi yaprakları ile sınırlandırılmıştır.
- Fitokimyasal bileşenlerin elde edilmesi amacıyla gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak yalnızca etanol ve metanol tercih edilmiş olup farklı polariteye sahip diğer çözücüler (örneğin aseton, kloroform vb.) çalışmaya dahil edilmemiştir.
- Elde edilen ekstraktların antifungal aktiviteleri, yalnızca bitkisel üretim süreçlerinde önemli ekonomik kayıplara yol açan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* fungus etmenleri üzerinde test edilmiştir.

- Fitopatojenlere karşı yürütülen biyolojik etkinlik denemeleri sadece *in vitro* (laboratuvar) koşullarında gerçekleştirilmiş olup elde edilen sonuçların *in vivo* (sera veya tarla) koşullarındaki performansı bu araştırmanın kapsamı dışında bırakılmıştır.

Ekstraktların fenolik içeriğinin nicel (kantitatif) olarak belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen LC-ESI-MS/MS analizleri, kullanılan analitik yöntemle uygun dötereli iç standartlar ile cihaz kütüphanesinde tanımlı olan 30 hedef fenolik bileşik ile sınırlandırılmıştır.

1.7. Varsayımlar

Bu araştırmanın planlanması, deneysel çalışmaların yürütülmesi ve elde edilen verilerin değerlendirilmesi aşamalarında aşağıdaki varsayımlar esas alınmıştır:

- Kırşehir ili Kaman ilçesine bağlı Yelek köyüne yakın organik üretim yapılan Cevizbağı Organik Tarım İşletmesinden temin edilen ceviz yapraklarının, ‘Kaman 1’ ceviz çeşidine ait morfolojik, biyokimyasal ve fitokimyasal özellikleri temsil edecek nitelikte olduğu kabul edilmiştir.

- Çalışmada kullanılan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* izolatlarının geliştirilmesi ve antifungal etkinlik denemelerinin gerçekleştirilmesi sırasında sağlanan laboratuvar koşullarının, söz konusu patojenlerin normal gelişimi için uygun ve yeterli olduğu varsayılmıştır. Bu kapsamda inkübasyon sıcaklığı, besiyeri özellikleri ve ortam neminin deney sonuçlarını olumsuz yönde etkilemediği kabul edilmiştir.

- Antifungal aktivite testlerinde ekstraktların çözündürülmesi amacıyla kullanılan ve negatif kontrol grubunu oluşturan %1 (v/v) Dimetil Sülfoksit (DMSO) çözeltisinin, araştırmada yer alan fungal etmenlerin miselyal gelişimi üzerinde herhangi bir engelleyici ya da uyarıcı etkiye sahip olmadığı varsayılmıştır.

- Fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesinde kullanılan LC-ESI-MS/MS analiz sisteminden elde edilen ölçüm sonuçlarının güvenilir ve analitik açıdan doğru olduğu kabul edilmiştir. Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde kullanılan SPSS paket programına verilerin hatasız aktarıldığı ve seçilen analiz yöntemlerinin varyans analizi gerekliliklerini tam olarak karşıladığı varsayılmıştır.

- Denemelerde kullanılan ekstraksiyon, kültüre alma ve analiz yöntemlerinin araştırma amaçlarına uygun sonuçlar verecek yeterlilikte olduğu ve elde edilen bulguların çalışmanın bilimsel değerlendirmeleri için güvenilir veri sağladığı kabul edilmiştir.

1.8. Araştırma Problemleri

Bu araştırmada, ‘Kaman 1’ eşidi ceviz yaprağı etanol ve metanol ekstraktlarının fitokimyasal özellikleri ile antifungal potansiyelinin ortaya konulması amaçlanmış ve aşağıdaki araştırma sorularına yanıt aranmıştır:

1. Türkiye’ye özgü yerel bir ceviz genotipi olan ‘Kaman 1’ (*Juglans regia* L.) eşidinin yapraklarından elde edilen metanol ekstraktında hangi fitokimyasal ve fenolik bileşikler bulunmaktadır? LC-ESI-MS/MS analizleri sonucunda belirlenen bu bileşiklerin miktarları hangi düzeydedir?

2. Kaman 1 ceviz çeşidi yapraklarından hazırlanan etanol ve metanol ekstraktları, bitkisel üretimde önemli kayıplara neden olan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* patojenlerinin miselyal gelişimini *in vitro* (laboratuvar) koşullarında engelleyebilmekte midir?

3. Kullanılan zc türü (etanol veya metanol) ile uygulanan ekstrakt konsantrasyonlarının (0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 ve 8,00 mg/mL), test edilen fungal etmenler üzerindeki antifungal etkinlik düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar oluşturup oluşturmadığı söylenebilir mi?

4. Araştırmada değerlendirilen fitopatojenlere karşı ‘Kaman 1’ eşidi ceviz yaprağı ekstraktlarının ldrc Konsantrasyon₅₀ (Lethal Concentration₅₀) (LC₅₀) değerleri nelerdir? Ayrıca test edilen patojenlerin bu ekstraktlara karşı gösterdiği hassas reaksiyon düzeyleri arasında farklılık bulunmakta mıdır?

1.9. Araştırmanın Hipotezi

Bu alışma, bitki hastalıklarıyla mücadelede sentetik kimyasallara alternatif oluşturabilecek doğal ürünlerin potansiyelini değerlendirmek amaçıyla yürütülmüştür. Araştırmanın amaçları doğrultusunda aşağıdaki hipotezler oluşturulmuştur:

Hipotez 1: Türkiye’nin yerel genetik kaynakları arasında yer alan ‘Kaman 1’ (*Juglans regia* L.) ceviz çeşidinin yaprakları, fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif fitokimyasal maddeler bakımından zengin bir içeriğe sahiptir.

Hipotez 2: ‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen etanol ve metanol ekstraktları, *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* gibi önemli fitopatojenlerin miselyal gelişimini *in vitro* koşullarda anlamlı düzeyde engelleyebilecek antifungal aktivite göstermektedir.

Hipotez 3: Bitki ekstraktlarının antifungal etkinliği, kullanılan çözücünün özelliklerine ve uygulanan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak değişmekte; çözücü tipi ve konsantrasyon farklılıkları, test edilen fungal etmenler üzerinde istatistiksel açıdan farklılıklara neden olmaktadır.

Hipotez 4: ‘Kaman 1’ eşidi ceviz yaprağı ekstraktlarının farklı fitopatojen türlerine karşı gösterdiği hassasiyet düzeyleri değişkenlik göstererek farklı patojenler ekstraktlara karşı daha yüksek hassasiyet göstermektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Ceviz (*Juglans regia*) Ekstraktlarının Fitokimyasal ve Fenolik İçeriğine Yönelik Çalışmalar

Son yıllarda doğal kaynaklı biyolojik bileşiklere olan ilginin artmasıyla birlikte, ceviz (*Juglans regia*) bitkisinin farklı organlarında bulunan fitokimyasal bileşenler birçok araştırmanın konusu olmuştur. Özellikle yaprak, kabuk, kök ve meyve dokularında yer alan fenolik bileşiklerin belirlenmesine yönelik çalışmalar, cevizin biyolojik aktivitesinin anlaşılmasına önemli katkılarda bulunmuştur.. Literatürde yer alan araştırmalar incelendiğinde, cevizin zengin sekonder metabolit içeriğinin farklı analitik yöntemlerle ayrıntılı biçimde ortaya konulduğu görülmektedir.

Aynı çevresel koşullarda yetiştirilen altı farklı *J. regia* çeşidinin yapraklarındaki fenolik profilini inceleyen Amaral ve ark. (2004), fenolik bileşiklerin miktarında ve dağılımında mevsimsel değişimlerin etkili olduğunu bildirmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, yapraklardaki fenolik madde düzeyleri mayıs ayından temmuz ayına doğru belirgin şekilde artış göstermiştir.

Mevsimsel değişimlerin fenolik içerik üzerindeki etkisini araştıran Vieira ve ark. (2019), Portekiz kökenli yeşil ve sarı ceviz yapraklarını sıcaklık destekli ekstraksiyon yöntemiyle analiz etmiştir. Çalışmada altı fenolik asit, on flavonoit ve bir tetralon türevi olmak üzere toplam on yedi farklı fenolik bileşik tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, yeşil yaprakların toplam fenolik içerik bakımından daha yüksek değerlere sahip olduğunu göstermiştir. Buna karşılık sarı yapraklarda flavonoitlerin, yeşil yapraklarda ise hidroksisinnamik asit türevlerinin daha baskın olduğu belirlenmiştir.

Bitkinin farklı organlarında bulunan fenolik bileşiklerin dağılımını inceleyen Medic ve ark. (2021), *J. regia*'nın yaprak, yaprak sapı, tomurcuk, kabuk ve kök dokularında toplam 91 farklı fenolik bileşik belirlemiştir. Araştırmacılar; hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler, flavanoller, flavonoller, naftokinonlar ve kumarinler gibi birçok fenolik grubu tanımlamıştır. Sonuçlar, yaprak, tomurcuk ve kabuk dokularında naftokinonların baskın olduğunu, yan köklerde ise hidroksibenzoik asitlerin daha yüksek oranlarda bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca toplam fenolik içeriğin en fazla ana kökte saptandığını, en düşük değerlerin ise yaprak sapı ve yaşlı kabuk dokularında bulunduğu bildirilmiştir.

Santos ve ark. (2013), ceviz yapraklarından elde edilen dekoksasyon ve metanol ekstraktlarının kimyasal bileşimini incelemiş ve malik asit, sükroz, α -tokoferol, 3-O-

kafeoilkinik asit türevleri ile kuersetin O-pentosidin en yoğun bulunan bileşikler arasında yer aldığını belirlemiştir. Benzer şekilde, Gawlik-Dziki ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ceviz yapraklarından hazırlanan farklı ekstraktlar karşılaştırılmış ve fenolik çeşitlilik bakımından etanol ekstraktlarının daha zengin bir profile sahip olduğu ortaya konulmuştur.

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) kullanarak ceviz yaprağı ekstraktlarını inceleyen Đorđević ve ark. (2022), toplam 18 fenolik bileşik tespit etmiş ve flavonoitlerin fenolik asitlere göre daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu bildirmiştir. Araştırmada özellikle (+)-kateşin, luteolin, mirisetin ve rutin bileşiklerinin, flavonoid içeriğinin büyük kısmını oluşturduğu, fenolik asitler içerisinde ise protokateşik asidin öne çıktığı belirtilmiştir. Benzer şekilde, Ara ve ark. (2023) tarafından farklı ekolojik bölgelerden toplanan on dört *J. regia* genotipi (Tuttle, Nugget, Franquette, Sel 1, Suleiman, Sel 4, Payne, Hamdan, Sel 3, Serr, Sel 2, DW Sel 5, Opex, Culchry ve Chenova) üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, yaprakların toplam polifenol, flavonoit ve flavanol içeriklerinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiş ve bu materyallerin önemli bir biyoaktif potansiyel taşıdığı vurgulanmıştır. Fenolik içerik araştırmaları yalnızca yapraklarla sınırlı kalmamış, cevizin farklı kısımları da ayrıntılı şekilde incelenmiştir. Önem ve Özaydın (2018), ceviz meyvesinin iç kabuğundan elde ettikleri etanol ve metanol ekstraktlarında HPLC analizleri sonucunda 23 farklı fenolik bileşik belirlemiştir. Araştırma bulgularında, gallik asit, protokateşik asit, *p*-kumarik asit, kateşin ve rutin gibi önemli bileşiklerin her iki ekstraktta da bulunduğu rapor edilmiştir. Bununla birlikte, metanol ekstraktlarının fenolik madde miktarı bakımından daha yüksek değerlere sahip olduğu bildirilmiştir.

Ceviz ağacının gövde kabuğu üzerine yapılan çalışmalarda da dikkat çekici sonuçlar elde edilmiştir. Upadhyay (2011), farklı polariteye sahip çözücüler kullanarak gerçekleştirdiği ekstraksiyonlar sonucunda karbonhidratlar, kardiyak glikozitler, flavonoidler, steroidler ve tanenlerin varlığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde Ashraf ve ark. (2022), gövde kabuğunda alkaloidler, fenoller, tanenler, saponinler ve indirgen şekerlerin bulunduğunu bildirmiştir.

Farklı araştırmalar ise cevizin içerdiği belirli fitokimyasal bileşiklere odaklanmıştır. Khatkhat ve ark. (2022), *J. regia* gövde kabuğunda bulunan juglonun (5-hidroksi-1,4-naftokinon) bitkinin kimyasal yapısındaki temel ve karakteristik bileşiklerden biri olduğunu belirtmiştir. Araştırmacılar, juglonun bitkinin kimyasal yapısında önemli bir yer tuttuğunu ifade etmişlerdir. Wianowska ve ark. (2016) ise yeşil

kabuk ekstraktlarını inceleyerek juglonun tek başına etkili olmadığını, ekstrakt içerisinde bulunan diğer fenolik bileşiklerle birlikte sinerjik bir etkileşim gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, cevizin biyolojik aktivitelerinin yalnızca tek bir bileşene değil, farklı fitokimyasallar arasındaki etkileşimlere bağlı olduğunu göstermektedir.

Yaprak dokusundaki fenolik bileşenlere odaklanan Arslan ve ark. (2025), özellikle juglon ve ellagik asidin yüksek oranlarda bulunduğunu bildirmiştir. Pereira ve ark. (2007) tarafından farklı ceviz çeşitleri (Lara, Franquette, Mayette, Marbot, Mellanaise ve Parisienne) üzerinde yürütülen çalışmada ise genetik farklılıkların fenolik bileşik kompozisyonu ve antioksidan kapasite üzerinde belirleyici olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Araştırmacılar, ceviz çeşitleri arasındaki biyokimyasal farklılıkların fitokimyasal içerik üzerinde doğrudan etkili olduğunu vurgulamıştır.

Son yıllarda cevizin farklı kullanım alanlarına yönelik çalışmalar da dikkat çekmektedir. Koç (2025), cevizin yeşil kabuklarından elde edilen piroliz sıvılarının kimyasal içeriğini GC-MS ve LC-MS/MS teknikleriyle incelemiştir. Analizler sonucunda propanoik asit, *E*-2-undesenal ve nonanal gibi bileşiklerin yanı sıra toplam 53 farklı kimyasal bileşen belirlenmiştir. LC-MS/MS sonuçlarında ise vanilik asit, vanilin ve siringik asidin baskın olduğu 12 fenolik bileşik tanımlanmıştır. Ayrıca toplam fenolik madde miktarının 201,76 mg GAE/mL, toplam flavonoid içeriğinin ise 114,74 mg QE/mL olduğu bildirilmiştir.

Yürütülen bu çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde, *J. regia* türünün yaprak, kök, kabuk ve meyve dokularının fenolik asitler, flavonoidler, flavanoller ve naftokinonlar bakımından oldukça zengin bir yapıya sahip olduğu görülmektedir. Elde edilen bulgular, cevizin önemli bir fitokimyasal kaynak olduğunu ortaya koyarken, bu tez kapsamında gerçekleştirilen fenolik içerik analizleri ve biyolojik aktivite çalışmalarının bilimsel temellerini destekleyen güçlü bir literatür altyapısı oluşturmaktadır.

2.2. Ceviz Ekstraktlarının Fitopatojen Funguslara Karşı Antifungal Etkinliği Üzerine Çalışmalar

Bitki hastalıkları, bitkisel üretimde önemli verim ve kalite kayıplarına neden olan başlıca faktörlerden biridir. Son yıllarda sentetik fungusitlerin çevresel ve sağlık açısından oluşturduğu riskler nedeniyle doğal kökenli alternatiflerin araştırılmasına yönelik ilgi artmıştır. Bu kapsamda, *J. regia* ekstraktlarının çeşitli fitopatojen funguslara karşı gösterdiği antifungal aktiviteler birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Özellikle farklı

bitki dokularından ve farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktların fungal gelişim üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Ceviz yapraklarının antifungal özelliklerini araştıran ilk çalışmalardan biri Albayrak (2006) tarafından yürütülmüştür. Araştırmada ‘Yalova-2’, ‘Yalova-3’, ‘Yalova-4’, ‘Şebin’ ve ‘1974-7’ ceviz çeşitlerinin yapraklarından hazırlanan sulu ve alkollü ekstraktlar ile juglon bileşiğinin çeşitli fitopatojenler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, *Fusarium solani* ve *F. graminearum* türlerinin ekstraktlara karşı yüksek tolerans gösterdiğini ve özellikle sulu ekstraktların bu patojenler üzerinde belirgin bir inhibisyon oluşturmadığını ortaya koymuştur. Buna karşılık söz konusu uygulamaların *Botrytis cinerea* ve *Geotrichum candidum* türlerinde miselyal gelişimi önemli ölçüde engellediği bildirilmiştir.

Benzer sonuçlar Kocaçalışkan ve ark. (2018) tarafından yürütülen çalışmada da elde edilmiştir. Araştırmacılar, farklı ceviz çeşitlerinden elde edilen yaprak ekstraktlarının *B. cinerea* ve *G. candidum* üzerinde güçlü antifungal etki oluşturduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca sulu ekstraktların etkinliğinin alkollü ekstraktlara göre daha düşük düzeyde kaldığı ifade edilmiştir.

Ceviz ağacının gövde kabuğundan hazırlanan ekstraktların antifungal özellikleri ise Upadhyay (2011) tarafından araştırılmıştır. Çalışmada petrol eteri, benzen, kloroform, aseton, metanol, etanol ve saf su gibi farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraktlar disk difüzyon yöntemiyle değerlendirilmiştir. Sonuçlar, aseton ekstraktının *Alternaria alternata* üzerinde önemli düzeyde gelişimi üzerinde engelleyici etki oluşturduğunu göstermiştir. Ayrıca kloroform ekstraktının *Trichoderma virens* ve *Fusarium solani* türlerine karşı dikkate değer bir antifungal potansiyel gösterdiği bildirilmiştir.

Alternaria ve *Fusarium* türleri üzerine yoğunlaşan Stompor-Chrzan (2002), ceviz yapraklarından elde edilen su ekstraktlarının çeşitli fungal etmenler üzerindeki etkilerini incelemiştir. Araştırmada, ekstraktların *A. alternata* etmeninin miselyal gelişimini %30,3-60,2 arasında, *F. oxysporum* etmeni miselyal gelişimini ise %43,6-61,9 arasında engellediği belirlenmiştir. Buna karşın aynı ekstraktların *F. culmorum* etmeni üzerinde gelişimi teşvik edici etki gösterdiği ve *B. cinerea* etmeni üzerinde anlamlı bir antifungal aktivite oluşturmadığı rapor edilmiştir. Bu bulgular, ceviz ekstraktlarının etkinliğinin test edilen etmenin türüne göre değişebileceğini göstermektedir.

Balkan ve ark. (2014) tarafından gerçekleştirilen çalışmada ise ceviz yaprağından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Araştırmacılar, 0,625-10,000 mg/mL aralığında uygulanan ekstraktların *F. oxysporum*

miselyal gelişimini engelleyemediğini bildirmiştir. Bu sonuçlar, ekstraksiyon yöntemi, çözücü tipi ve uygulanan konsantrasyonun antifungal etkinlik üzerinde belirleyici faktörler olduğunu ortaya koymaktadır.

Wianowska ve ark. (2016), farklı ceviz (Lake, Koszycki, UO1, UO2 ve aşısız ceviz) genotiplerine ait yeşil kabuk ekstraktlarının *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium culmorum*, *Phytophthora infestans* ve *Rhizoctonia solani* üzerindeki etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda, antifungal etkinliğin yalnızca juglon bileşiğine bağlı olmadığı, ekstrakt içerisinde bulunan diğer fenolik bileşiklerin de sürece katkı sağlayarak sinerjik bir etki oluşturduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, miselyal gelişimin engellenmesinde juglonun önemli rol oynadığını ancak tek başına yeterli olmadığını vurgulamışlardır.

Koç (2025) tarafından yürütülen çalışma kapsamında, cevizin yeşil kabuklarından elde edilen piroliz sıvısının antifungal özellikleri değerlendirilmiştir. Zehirli Besiyeri Yöntemi kullanılarak yürütülen araştırmada, preparatın *Fusarium oxysporum* ve *Verticillium dahliae* üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bulgular, uygulama konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak antifungal etkinliğin arttığını ve en yüksek inhibisyon oranlarının %25 (v/v) konsantrasyonda elde edildiğini göstermiştir.

Konu üzerinde yürütülen benzer çalışmalarda yalnızca ceviz ekstraktlarının patojenlere karşı etkileri değil, ceviz üretiminde görülen hastalıkların biyolojik yöntemlerle kontrolüne yönelik çalışmalar da bulunmaktadır. Choub ve ark. (2021), ceviz yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olan antraknoz hastalığı (Etmen; *Colletotrichum gloeosporioides*) ile mücadelede *Bacillus velezensis* CE 100 suşunun etkinliğini araştırmıştır. Çalışma sonucunda biyolojik uygulamanın patojenin miselyal gelişimini %33,6 oranında azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca uygulamanın kök gelişimini, klorofil miktarını ve toplam bitki biyokütlesini olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir.

Daha önceki çalışmalar birlikte değerlendirildiğinde *J. regia* ekstraktlarının farklı fitopatojen fungus üzerinde dikkate değer düzeyde antifungal aktivite gösterebildiği görülmektedir. Bununla birlikte, etkinlik düzeyinin kullanılan bitki kısmına, ekstraksiyon yöntemine, çözücü türüne ve test edilen etmenin biyolojik özelliklerine bağlı olarak değiştiği anlaşılmaktadır. Elde edilen bu bulgular, ceviz ekstraktlarının doğal biyofungisit geliştirme çalışmalarında önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermekte ve bu tez kapsamında yürütülen araştırmaya bilimsel bir temel oluşturmaktadır.

2.3. Ceviz Ekstraktlarının Genel Antimikrobiyal ve Klinik Çalışmalardaki Yeri

Bitkisel üretimde verim kayıplarına yol açan fitopatojenlere yönelik araştırmaların yanı sıra, ceviz ekstraktlarının insan sağlığını tehdit eden patojenler ve klinik mikroorganizmalar üzerindeki etkileri de daha önce yürütülen çalışmalarda geniş bir şekilde ele alınmıştır.

Žurek ve ark. (2023), ceviz yaprak preparatlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini inceledikleri araştırmalarında preparatları üç Gram-negatif bakteri (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*), üç Gram-pozitif bakteri (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) ve *Candida albicans* fungal etmenleri üzerinde test etmişlerdir. Ekstraktların 10 mg/mL konsantrasyondaki uygulamalarında Gram-negatif bakterilere karşı oldukça “güçlü” bir bakterisidal aktivite saptanırken, Gram-pozitif bakterilerde bu etkinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bu spesifik çalışmada, *C. albicans* etmenine karşı herhangi bir antifungal etki tespit edilemediği rapor edilmiştir.

Benzer şekilde Pereira ve ark. (2007) tarafından yürütülen araştırmada, farklı ceviz çeşitlerinin (Lara, Franquette, Mayette, Marbot, Mellanaise ve Parisienne) yaprak ekstraktları test edilmiş ve *C. albicans* ile *Cryptococcus neoformans* fungal etmenlerinin 100 mg/mL konsantrasyondaki ekstraktlara dahi direnç gösterdiği bildirilmiştir.

Ceviz ekstraktlarının insan patojeni funguslar üzerinde yüksek düzeyde engelleyici olduğu kanıtlanmıştır. Sytykiewicz ve ark. (2015), yapraklardan elde ettikleri dört farklı ekstrakt fraksiyonunun (metanol, etil asetat, alkaloid ve hidrolize metanol) patojenik *C. albicans* suşlarına karşı antifungal potansiyelini değerlendirmişlerdir. Araştırmada en yüksek antikandidal aktivitenin metanol ekstraktının alkaloid fraksiyonunda bulunduğu, etil asetat ve hidrolize metanol preparatlarının da incelenen fungusun büyüme oranını başarılı bir şekilde engellediği ifade edilmiştir. Arji ve ark. (2015) ise ceviz meyvesi kabuğu ve yapraklarının sulu ile metanol ekstraktlarını dört farklı klinik fungus türüne (*C. albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* ve *Candida krusei*) karşı test ederek her iki ekstrakt tipinin de bu türler üzerinde dikkate değer antifungal etkiler gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Farklı yetiştiricilik alanlarında toplanan farklı ceviz genotipleriyle yürütülen araştırmalar da bu biyoaktif etkiyi desteklemektedir. Ara ve ark. (2023), 14 farklı ceviz genotipinin yapraklarının *C. glabrata*, *C. albicans* ve *C. tropicalis* türlerine karşı “önemli” bir antifungal potansiyele sahip olduğunu ve miselyal büyümeyi sırasıyla %57,7 ile %93,6, %26,8 ile %51,5 ve %100 oranlarında engellediğini saptamışlardır. Hamida ve

ark. (2024), Cezayir’de yetiştirilen cevizlerin ağız içi *Candida* enfeksiyonlarına karşı etkinliğini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda etil asetat ve aseton ekstraktlarının yüksek bir antifungal aktivite gösterdiği, bu bağlamda ağaç kabuğu ekstraktlarının ağız içi enfeksiyonların tedavisinde terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği rapor edilmiştir.

İnsan patojeni olan ve klinik öneme sahip diğer patojen fungus türleri üzerinde de spesifik araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Haghi ve ark. (2016), ceviz ince kabuklarından elde edilen etanol ekstraktının standart ve izole edilmiş *Aspergillus flavus* ile *Aspergillus fumigatus* türleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Sıvı besiyeri yöntemiyle yürütülen denemelerde minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin *A. fumigatus* için 15 mg/mL, *A. flavus* için ise 61,5 mg/mL olarak hesaplandığı ve ceviz ince kabuklarının bu fungusların gelişimini engelleme özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir.

Tıp ve diş hekimliği alanındaki biyolojik uygulamaları detaylandıran Khattak ve ark. (2022), gövde kabuğunun ana fitokimyasal bileşeni olan juglonun antiparaziter, antiviral, antibakteriyel, antiinflamatuvar, antikanser ve antifungal bir ajan olarak işlev gördüğünü teyit etmişlerdir. Araştırmacılar, bu biyoaktif bileşiğin diş hekimliğinde diş beyazlatıcı, “çürük önleyici ve plak önleyici” özellikleriyle öne çıktığını ve diş tedavi ürünlerinde kullanımına yönelik ilginin giderek arttığını bildirmişlerdir.

Daha önce yürütülen klinik ve genel antimikrobiyal araştırmalardan elde edilen bu veriler, bitki dokularının yalnızca bitkisel üretimde karşılaşılan fitopatojenlere karşı değil, insan sağlığını tehdit eden klinik mikroorganizmalara karşı da doğal ve geniş spektrumlu bir biyoaktif ajan olarak değerlendirilebileceğini açıkça göstermektedir. Bu durum, araştırma konumuz olan ‘Kaman 1’ çeşidi üzerinde yapılan fenolik ve biyolojik etkinlik denemelerinin güçlü bir bilimsel temele dayandığını teyit etmektedir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu bölümde, ‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarının fitokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve çeşitli fitopatojen funguslara karşı antifungal aktivitelerinin ortaya konulması amacıyla kullanılan materyaller ile araştırmada uygulanan yöntemler açıklanmıştır. Çalışmada yararlanılan bitkisel materyaller, fungal kültürler, kimyasal maddeler ve laboratuvar analizlerinde kullanılan ekipmanlar ayrıntılı olarak sunulmuştur.

3.1. Materyal

Araştırmanın temel materyalini, Kırşehir iline özgü yerel bir ceviz çeşidi olan ‘Kaman 1’ (*Juglans regia* L.)’e ait yaprak örnekleri oluşturmaktadır. Bunun yanında antifungal aktivite denemelerinde kullanılan fitopatojen fungus kültürleri, ekstraksiyon ve kimyasal analizlerde yararlanılan çözücüler ile laboratuvar ekipmanları çalışmanın diğer materyallerini meydana getirmiştir.

3.1.1. Bitkisel materyal (Ceviz Yaprakları)

Bu araştırmada kullanılan bitkisel materyal, Kırşehir ilinin önemli yerel genetik kaynaklarından biri olan ‘Kaman 1’ ceviz çeşidine (*J. regia* L.) ait yapraklardan oluşmaktadır. ‘Kaman 1’ çeşidinin özellikle antraknoz gibi çeşitli fungal hastalıklara karşı dayanıklı reaksiyon gösterebildiği ve çevre koşullarına yüksek adaptasyon özelliğinin olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Kaplukan, 2015). Bu özellikleri nedeniyle çeşidin yapraklarında bulunabilecek biyoaktif bileşiklerin antifungal potansiyel taşıyabileceği düşünülmüş ve araştırma materyali olarak tercih edilmiştir.

Çalışmada kullanılan yaprak örnekleri, 03 Ağustos 2024 tarihinde Kırşehir ili Kaman ilçesine bağlı Yelek köyüne yakın organik üretim yapılan Cevizbağı Organik Tarım İşletmesinde bulunan ceviz bahçesinden toplanmıştır. Toplanan yapraklar laboratuvara getirildikten sonra doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmadan, hava sirkülasyonunun sağlandığı oda sıcaklığı koşullarında kurutulmuştur. Bu işlem sırasında fenolik bileşiklerin ve diğer biyoaktif maddelerin yapısal bütünlüğünün korunmasına özen gösterilmiştir.

Tamamen kuruyan yaprak örnekleri, homojen bir materyal elde etmek amacıyla laboratuvar tipi öğütücü kullanılarak ince toz haline getirilmiştir. Elde edilen yaprak tozları, daha sonra gerçekleştirilecek ekstraksiyon işlemlerinde, fitokimyasal analizlerde, antioksidan kapasite belirlemelerinde ve antifungal aktivite testlerinde kullanılmak üzere

+4 °C'ye ayarlanmış buzdolabında karanlık koşullarda muhafaza edilmiştir. Araştırmada kullanılan bitkisel materyalin toplandığı üretim alana ilişkin konum bilgileri, rakım ve koordinat bilgileri Tablo 3.1'de verilmiş olup, örnekleme yapılan 'Kaman 1' ceviz ağaçlarının genel görünümü ise Şekil 3.1'de sunulmuştur. Toplama alanı yaklaşık 1276 m rakıma sahip olup, koordinatları 39,28310° Kuzey enlemi ve 33,70275° Doğu boylamı olarak kaydedilmiştir.

Tablo 3.1. Kırşehir ili Kaman ilçesinden toplanan bitki materyalinin lokasyon bilgileri

Bitki Adı	Lokasyon Bilgisi	Örnek Toplanma Tarihi	Rakım (m)	Koordinatları
Kaman1 ceviz çeşidi	Kırşehir ili, Kaman ilçesi, Yelek köyü	03.08.2024	1276	Enlem: 39° 16' 48" Kuzey (39.281638) Boylam: 33° 41' 57" Doğu (33.700540)



Şekil 3.1. Bitki materyalinin toplandığı ağacın ve yaprakların genel görünümü

3.1.2. Fungal materyaller

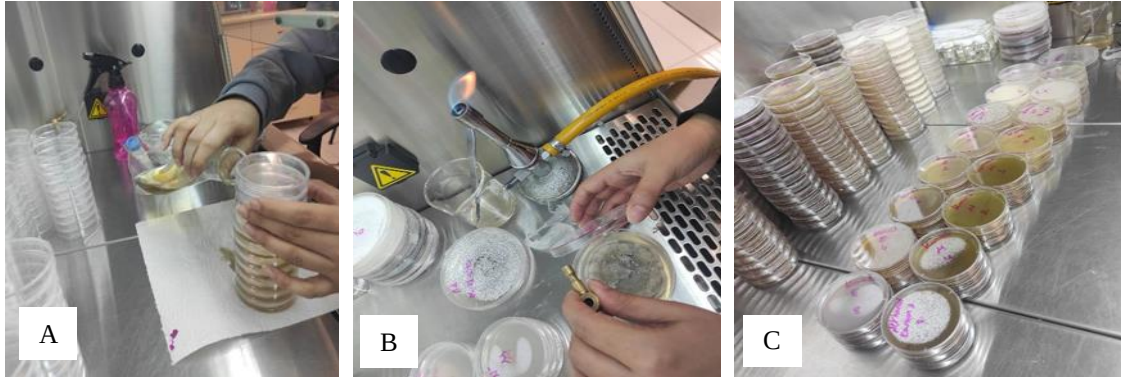
Bu çalışmada, organik olarak üretilen 'Kaman 1' ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen ekstraktların antifungal potansiyelini belirlemek amacıyla bitkisel üretimde yaygın olarak ekonomik kayıplara neden olan dört farklı fitopatojen fungus kullanılmıştır. Araştırmada test edilen etmenler olarak *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* türleri seçilmiştir. Söz konusu etmenler, dünya genelinde birçok kültür bitkisinde hastalıklara neden olarak verim ile kalite üzerinde önemli olumsuz etkiler oluşturmaları nedeniyle bitki koruma çalışmalarında sıklıkla araştırma konusu olmaktadır. Ayrıca bu patojenlerin bazı fungusit

gruplarına karşı zamanla direnç geliştirebildiği bilinmekte olup, bu durum alternatif ve çevre dostu mücadele yöntemlerine olan gereksinimi artırmaktadır.

Araştırmada kullanılan fungal izolatlar, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitoklinik Laboratuvarlarında muhafaza edilen ve daha önce izolasyonu yapılarak tanıları doğrulanmış saf kültürlerden temin edilmiştir. Denemelerde güvenilir ve tekrarlanabilir sonuçlar elde edebilmek amacıyla tüm çalışmalar standart laboratuvar koşullarında yürütülmüştür.

Aktif kültürlerin hazırlanması için stok kültürlerden alınan miselyal diskler, içerisinde yaklaşık 20 mL Patates Dekstroz Agar (PDA) bulunan 90 mm çapındaki steril petri kaplarına aseptik koşullar altında aktarılmıştır. Ekim işlemlerinin ardından petri kapları kontrollü iklim dolaplarına yerleştirilmiş ve fungusların gelişimi için uygun kabul edilen 25 ± 2 °C sıcaklıkta yedi gün süreyle inkübe edilmiştir (Pandey ve ark., 1982). İnkübasyon süresinin sonunda, antifungal aktivite testlerinde kullanılmak üzere yeterli gelişim göstermiş genç ve aktif fungal kültürler elde edilmiştir.

Çalışmada kullanılan PDA besiyerinin hazırlanması, steril petri kaplarına dökülmesi, fungal etmenlerin ekim aşamaları ve inkübasyon sonunda gelişen miselyal kültürlerin genel görünüşleri Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. KAEÜ fitoklinik laboratuvarlarında PDA dökümü (A), fungus ekimi (B), ekimleri yapılmış hastalık etmenleri (C)

3.1.3. Reaktifler, çözeltiler ve standartlar

Araştırmada gerçekleştirilen ekstraksiyon, saflaştırma ve kimyasal analiz işlemlerinin güvenilirliğini sağlamak amacıyla analitik saflık derecesine sahip kimyasallar kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda hazırlanan tüm çözeltilerde, olası kirleticilerin etkisini en aza indirmek ve analiz doğruluğunu artırmak için ultra saf su (Milli-Q®, Millipore, Bedford, MA, ABD) kullanılmıştır.

‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı ekstraktlarının fitokimyasal bileşiminin belirlenmesinde kullanılan LC-ESI-MS/MS analizlerinde, analitik seçiciliği ve spektral çözünürlüğü en üst düzeyde tutmak amacıyla yüksek saflıktaki çözücülerden yararlanılmıştır. LC/MS derecesinde metanol (MeOH) ve kloroform (CHCl₃) (Merck®, Darmstadt, Almanya) ile HPLC saflığında formik asit (J.T. Baker®, Phillipsburg, NJ, ABD) kullanılmıştır.

Fenolik bileşiklerin nicel olarak belirlenebilmesi ve cihaz kalibrasyonlarının güvenilir şekilde yapılabilmesi amacıyla saflık derecesi %95’in üzerinde olan standart referans bileşiklerden yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan fenolik standartlar; gallik asit, protokatekuik asit, protokatekuik aldehit, sesamol, gentisik asit, kateşin, klorojenik asit, epikateşin, kafeik asit, vanilin, siringik asit, *p*-kumarik asit, taksifolin, ferulik asit, salisilik asit, 4-hidroksibenzoik asit, hesperidin, rosmarinik asit, oleuropein, luteolin-7-glikozit, rutin, resveratrol, ellagik asit, naringenin, kuersetin, luteolin, apigenin, krisin, galangin ve flavondan oluşmuştur. Analizlerde kullanılan tüm standart maddeler Sigma-Aldrich® (St. Louis, MO, ABD) firmasından temin edilmiştir.

Analizlerden önce, her bir fenolik standart için 1000 mg/L konsantrasyonda stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bu amaçla standart maddeler hassas analitik teraziler yardımıyla tartılmış ve metanol içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan stok çözeltiler, fenolik bileşiklerin oksidasyona uğramasını ve kimyasal yapılarında meydana gelebilecek değişimleri önlemek amacıyla ışık geçirmeyen buzdolabı koşullarda ve 4 ± 1 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Böylece analiz süresince standartların kararlılığının korunması sağlanmıştır.

3.2. Metot

Bu bölümde, araştırmada kullanılan bitkisel materyallerden ekstrakt elde edilmesine ilişkin işlemler, fitokimyasal bileşenlerin belirlenmesinde uygulanan analiz yöntemleri ve hazırlanan ekstraktların çeşitli fitopatojenler üzerindeki antifungal etkilerinin değerlendirilmesine yönelik prosedürler açıklanmıştır. *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* etmenleri üzerinde gerçekleştirilen biyolojik aktivite denemelerinde izlenen yöntemler ile verilerin değerlendirilmesinde kullanılan analiz süreçleri bu bölümde sunulmuştur.

3.2.1. Bitki ekstraksiyonu işlemleri

Araştırma kapsamında gerçekleştirilecek fitokimyasal analizler ve biyolojik aktivite denemeleri için toplanan ‘Kaman 1’ ceviz (*J. regia* L.) yaprakları, öncelikle içeriklerindeki biyoaktif bileşiklerin korunması amacıyla doğrudan güneş ışığından uzak, iyi havalandırılan laboratuvar ortamında oda sıcaklığında kurutulmuştur. Kuruma işlemi tamamlandıktan sonra yaprak örnekleri laboratuvar tipi bir öğütücü kullanılarak ince ve homojen bir toz haline getirilmiştir. Öğütme işlemiyle bitki materyalinin yüzey alanı artırılarak çözücü ile temasının güçlendirilmesi ve hücre içerisinde bulunan fenolik bileşikler ile diğer sekonder metabolitlerin ekstraksiyon veriminin maksimum düzeye çıkarılması sağlanmıştır.

Hazırlanan yaprak tozundan hassas analitik terazi yardımıyla 100 g tartılarak steril 1 L hacmindeki erlenmayerlere aktarılmıştır. Ekstraksiyon işlemi için örneklerin üzerine 600 mL analitik saflıkta metanol (MeOH) ilave edilmiş ve maserasyon yöntemi uygulanmıştır. Farklı polaritedeki bileşiklerin ekstraksiyon kalitesini karşılaştırabilmek amacıyla aynı işlem etanol kullanılarak da gerçekleştirilmiştir. Böylece her iki çözücü ile ayrı ekstraktlar elde edilmiştir (Yılar ve ark., 2020). Bitki materyali ile çözücünün etkin şekilde temas etmesini sağlamak amacıyla hazırlanan karışımlar mekanik çalkalayıcıya yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında 24 saat boyunca sürekli olarak çalkalanmıştır. Süre sonunda elde edilen karışımlar steril filtre kağıdından süzülerek bitki kalıntılarından ayrılmıştır.

Süzme işlemi sonrasında elde edilen ekstraktlarda bulunan çözücülerin uzaklaştırılması için rotary evaporatör (döner buharlaştırıcı) kullanılmıştır. Fenolik bileşiklerin ve diğer biyoaktif maddelerin yüksek sıcaklıktan etkilenerek yapısal değişime uğramasını önlemek amacıyla buharlaştırma işlemi vakum altında ve 32°C’de gerçekleştirilmiştir (Yılar ve ark., 2020). Böylece çözücüler sistemden uzaklaştırılırken ekstraktların kimyasal ekstraktların kimyasal bütünlüğü korunmuştur.

Buharlaştırma işlemi sonunda elde edilen ham ekstraktlar hava geçirmeyen kapalı kaplara aktarılmış ve analiz zamanına kadar +4°C’ye ayarlanmış buzdolabında karanlık koşullarda muhafaza edilmiştir. Hazırlanan ekstraktlar daha sonra fitokimyasal analizlerde, antioksidan kapasite belirleme çalışmalarında ve çeşitli fitopatogen funguslar üzerindeki antifungal aktivite testlerinde kullanılmıştır.

Toplanan ceviz yaprakları ile ekstraksiyon aşamalarına ait laboratuvar çalışmalarına ilişkin bazı görüntüler Şekil 3.3’te verilmiştir.



Şekil 3.3. Toplanan bitki materyali ve bitki ekstraksiyonu işlemleri

3.2.2. LC-ESI-MS/MS tabanlı fitokimyasal kantifikasyon

‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen ekstraktların fitokimyasal bileşiminin belirlenmesinde, yüksek hassasiyet ve seçicilik sağlayan Sıvı Kromatografisi-Elektrosprey İyonizasyon-Tandem Kütle Spektrometrisi (LC-ESI-MS/MS) yöntemi kullanılarak Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜBTUAM)’inde yaptırılmıştır. Analizler, Kayır ve ark. (2023) tarafından standardize edilen ve geçerliliği ortaya konulan yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu teknik, karmaşık bitki ekstraktlarında bulunan bileşiklerin moleküler kütleleri ve parçalanma desenleri temel alınarak tanımlanmasına ve miktarlarının belirlenmesine olanak sağlamaktadır.

Analiz öncesinde, rotary evaporatör yardımıyla elde edilen ham metanol ekstraktları, cihaz performansını olumsuz etkileyebilecek partikül ve saflığı engelleyen yapılardan arındırmak amacıyla mikroporöz membran filtrelerden geçirilmiştir. Böylece örnekler kromatografik analizlere uygun hale getirilmiştir.

LC-ESI-MS/MS analizleri sırasında, ekstrakt içerisinde bulunması muhtemel fenolik asitler, flavonoidler ve diğer ilişkili sekonder metabolitlerden oluşan toplam 30 hedef bileşiğin taraması yapılmıştır. Her bir bileşiğin varlığı ve miktarı, ilgili standartlarla karşılaştırılarak belirlenmiştir.

Ölçümlerin doğruluğunu ve tekrarlanabilirliğini artırmak amacıyla analizlerde döterelenmiş (izotopla işaretlenmiş) iç standartlardan yararlanılmıştır. Bu yaklaşım sayesinde örnek hazırlama ve iyonizasyon aşamalarında ortaya çıkabilecek matriks etkileri, sinyal değişimleri ve olası analit kayıpları minimize edilmiştir. Böylece elde edilen konsantrasyon değerlerinin güvenilirliği artırılmıştır (Kayır ve ark., 2023).

Analizler sonucunda elde edilen fitokimyasal veriler, ceviz yaprağı etanol ve metanol ekstraktlarının *A. alternata*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *M. fructigena* ve *P. infestans* üzerindeki antifungal etkilerinin değerlendirilmesinde temel veri kaynağı olarak kullanılmıştır. Ayrıca belirlenen fenolik bileşiklerin, gözlenen biyolojik aktivitelerle ilişkilendirilmesine katkı sağlayarak olası etki mekanizmalarının yorumlanmasına olanak tanımıştır.

3.2.3. *In Vitro* antifungal aktivite denemeleri

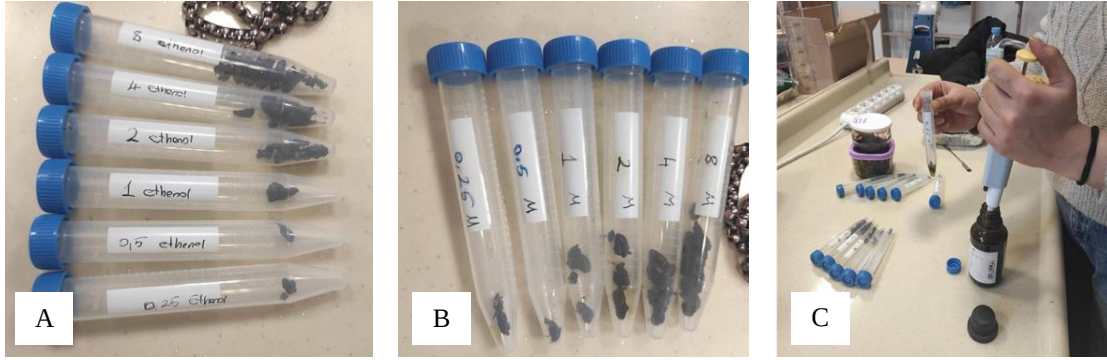
‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen metanol ve etanol ekstraktlarının antifungal etkinlikleri, Nwosu ve Okafor (1995) tarafından tanımlanan Zehirli Gıda (Poisoned Food) yönteminin modifiye edilmiş bir uygulaması kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntem, bitki ekstraktlarının besiyeri ortamına belirli konsantrasyonlarda karıştırılması ve patojenlerin bu ortamda gösterdikleri miselyal gelişimin ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Denemelerde kullanılan ekstraktların besiyeri içerisinde homojen biçimde dağılabilmesi için öncelikle stok çözeltiler hazırlanmıştır. Bu amaçla ham ekstraktlar, fungus gelişimi üzerinde herhangi bir olumsuz etkisi bulunmadığı kabul edilen %1 (v/v) Dimetil Sülfoksit (DMSO) içerisinde çözündürülmüştür.

Antifungal aktivite testlerinde kullanılan Patates Dekstrozu Agar besiyeri, deney öncesinde 121 °C sıcaklıkta otoklavlanarak steril hale getirilmiştir. Sterilizasyon sonrasında besiyeri yaklaşık 40°C’ye kadar soğutulmuş ve böylece ekstraktlarda bulunan sıcaklığa hassas bileşiklerin termal degradasyona (sıcaklığa bağlı bozunmaya) uğraması engellenmiştir.

Hazırlanan stok çözeltiler, soğutulmuş PDA içerisine eklenerek son konsantrasyonları 0 (kontrol), 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 ve 8,00 mg/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekstraktların besiyerine eşit şekilde dağılması amacıyla karışımlar manyetik karıştırıcı yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Daha sonra her uygulama grubuna ait steril 60 mm çapındaki petri kaplarına yaklaşık 10 mL besiyeri dökülmüş ve ortamın katılaşması beklenmiştir.

Denemelerde kullanılan ekstrakt konsantrasyonlarının hazırlanması, çözücü ilavesi ve besiyeri hazırlama aşamalarına ait laboratuvar çalışma görüntüleri Şekil 3.4’te sunulmuştur.



Şekil 3.4. Ekstrakt dozları ayarlanmış etanollü falkon tüpleri (A), ekstrakt dozları ayarlanmış metanollü falkon tüpleri (B), dozları ayarlanmış falkon tüplerine DMSO eklenmesi (C)

Besiyerlerinin katılaşmasının ardından, daha önce PDA ortamında geliştirilmiş 7 günlük aktif fungal kültürlerden alınan 5 mm çapındaki miselyum diskleri, steril koşullar altında petri kaplarının merkezine yerleştirilmiştir. Antifungal aktivite denemelerinde test edilen etmenleri olarak *A. alternata*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *M. fructigena* ve *P. infestans* türleri kullanılmıştır. Ekim işlemi tamamlanan petri kapları, fungusların gelişimi için uygun koşullar sağlayan 23 ± 2 °C sıcaklıktaki inkübatörlerde 10 gün süreyle bekletilmiştir (Yılar ve ark., 2020).

İnkübasyon süresince test edilen etmenlerin miselyal gelişimleri düzenli olarak izlenmiş; koloni çapları kumpas yardımıyla birbirine dik iki eksen boyunca ölçülerek günlük olarak kaydedilmiştir. Böylece ekstrakt uygulamalarının fungal gelişim üzerindeki etkileri günlük olarak takip edilmiştir. Kontrol uygulamalarında ekstrakt içermeyen, ancak çözücü etkisini değerlendirmek amacıyla %1 (v/v) DMSO ilave edilmiş PDA ortamı kullanılmıştır. Bu grup negatif kontrol olarak kabul edilmiştir.

Denemelerden elde edilen sonuçların güvenilirliğini artırmak amacıyla tüm uygulamalar üç tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her uygulama iki kez tekrarlanmıştır. Böylece elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeye uygunluğu sağlanmıştır.

Ekstraktların test edilen etmenler üzerindeki antifungal etkisini ortaya koymak amacıyla miselyal gelişim inhibisyon oranları yüzde (%) olarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda Pandey ve ark. (1982) tarafından önerilen aşağıdaki formülden yararlanılmıştır:

$$I (\%) = [(dc - dt) / dc] \times 100$$

Formülde;

- **I (%)**: Miselyal gelişimin inhibisyon oranını,
- **dc**: Negatif kontrol grubunda ölçülen koloni çapını,

- **dt:** Ekstrakt uygulanan grupta ölçülen koloni çapını, ifade etmektedir.

Bu hesaplama yöntemi sayesinde, farklı ekstrakt konsantrasyonlarının ve çözücü tiplerinin test edilen etmenlerin gelişimini ne ölçüde engelleyebildiği nicel olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. İstatistiksel analiz

Hazırlanan etanol ve metanol ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 ve 8,00 mg/mL) ile kontrol uygulamalarının, *A. alternata*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *M. fructigena* ve *P. infestans* etmenleri üzerindeki antifungal etkileri, elde edilen miselyal gelişim inhibisyon oranları esas alınarak değerlendirilmiştir.

Denemeler sonucunda elde edilen sayısal veriler öncelikle varyans analizine tabi tutulmuş ve uygulamalar arasındaki farklılıkların istatistiksel açıdan anlamlı olup olmadığı Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile belirlenmiştir. Varyans analizinde anlamlı farklılık saptanan durumlarda, bu farklılığın hangi uygulamalardan kaynaklandığını ortaya koymak amacıyla çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır. Böylece ekstrakt konsantrasyonları antifungal etkinlik düzeylerine göre kendi içerisinde gruplandırılmıştır.

Araştırmada gerçekleştirilen tüm istatistiksel değerlendirmeler $p \leq 0,05$ anlamlılık düzeyinde yapılmıştır. Başka bir ifadeyle, sonuçlar %95 güven düzeyi esas alınarak yorumlanmıştır. Verilerin kaydedilmesi, varyans analizlerinin gerçekleştirilmesi ve Duncan testine göre uygulama gruplarının harflendirilmesi işlemleri SPSS istatistik paket programı (SPSS sürüm 15.0; SPSS Inc., Chicago, IL. , ABD) kullanılarak yürütülmüştür.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, ‘Kaman 1’ ceviz çeşidinin yapraklarından elde edilen ekstraktlara ait fitokimyasal analiz sonuçları ile bu ekstraktların test edilen etmenler üzerindeki antifungal etkilerine ilişkin bulgular sunulmuştur.

4.1. Belirlenen Fenolik Bileşikler (LC-ESI-MS/MS Analizi)

‘Kaman 1’ ceviz (*J. regia* L.) yapraklarından hazırlanan metanol ekstraktının LC-ESI-MS/MS yöntemi ile gerçekleştirilen analizleri, ekstraktın belirli fenolik bileşikler bakımından dikkat çekici bir içeriğe sahip olduğunu göstermiştir. Analiz kapsamında taranan 30 farklı fenolik standart arasında en yüksek konsantrasyona sahip bileşenin kateşin olarak belirlenmiştir. Kateşin miktarı 976,388 µg/g olarak ölçülmüş ve ekstraktın fenolik profilinde baskın bileşen olduğu ortaya konulmuştur (Tablo 4.1).

Kateşinden sonra en yüksek düzeyde tespit edilen bileşikler sırasıyla luteolin-7-glikozit (211,187 µg/g) ve taksifolin (142,929 µg/g) olmuştur (Tablo 4.1). Bu sonuçlar, ‘Kaman 1’ çeşidi yapraklarının özellikle flavonoid ve flavanol gruplarına ait bileşikler bakımından zengin bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir.

Analizlerde ayrıca kuersetin (15,869 µg/g), galangin (3,775 µg/g), ellagik asit (1,549 µg/g) ve sesamol (1,228 µg/g) gibi biyolojik açıdan önemli fenolik bileşikler de belirlenmiştir. Bunun yanında naringenin (0,397 µg/g) ve protokatekuik aldehit (0,085 µg/g) düşük miktarlarda tespit edilmiştir (Tablo 4.1).

Öte yandan, analiz edilen standartlar arasında yer alan 4-hidroksibenzoik asit, apigenin, epikateşin, ferulik asit, flavon, gallik asit, gentisik asit, hesperidin, kafeik asit, klorojenik asit, krisin, luteolin, oleuropein, *p*-kumarik asit, protokatekuik asit, resveratrol, rosmarinik asit, rutin, salisilik asit, sirinik asit ve vanilin ölçüm sınırlarının altında kalmış ve ekstraktta tespit edilememiştir (Tablo 4.1). Bu durum, ‘Kaman 1’ çeşidinin fenolik metabolizma yapısının belirli bileşiklerin sentezi üzerine yoğunlaştığını göstermektedir.

LC-ESI-MS/MS analizlerinden elde edilen tüm kantitatif veriler Tablo 4.1’de ayrıntılı olarak sunulmuştur.

Tablo 4.1. LC-ESI-MS/MS ile belirlenen ‘Kaman 1’ MeOH (Metanol) ekstraktlarının kantitatif analizi

No	RT (Altkonma Zamanı)	Fenolik Bileşikler	Miktarı (µg/g Ekstrakt)
1	9,19	Gallik Asit	Belirlenemedi
2	11,11	Protokatekuik Asit	Belirlenemedi
3	12,06	Protokatekuik Aldehit	0,085
4	12,07	Sesamol	1,228
5	12,34	Gentisik Asit	Belirlenemedi
6	13,99	Kateşin	976,388
7	13,61	Klorojenik Asit	Belirlenemedi
8	13,99	Epikateşin	Belirlenemedi
9	14,19	Kafeik Asit	Belirlenemedi
10	14,71	Vanilin	Belirlenemedi
11	15,76	Siringik Asit	Belirlenemedi
12	15,86	p-Kumarik Asit	Belirlenemedi
13	16,13	Taksifolin	142,929
14	16,36	Ferulik Asit	Belirlenemedi
15	16,38	Salisilik Asit	Belirlenemedi
16	16,78	4-Hidroksibenzoik Asit	Belirlenemedi
17	16,86	Hesperidin	Belirlenemedi
18	16,95	Rosmarinik Asit	Belirlenemedi
19	17,30	Oleuropein	Belirlenemedi
20	17,48	Luteolin-7-Glikozit	211,187
21	17,59	Rutin	Belirlenemedi
22	18,61	Resveratrol	Belirlenemedi
23	19,08	Ellagik Asit	1,549
24	19,75	Naringenin	0,397
25	20,03	Kuersetin	15,869
26	20,23	Luteolin	Belirlenemedi
27	21,15	Apigenin	Belirlenemedi
28	22,59	Krisin	Belirlenemedi
29	22,64	Galangin	3,775
30	22,94	Flavon	Belirlenemedi

Tablo 4.1’de sunulan veriler genel olarak değerlendirildiğinde, ‘Kaman 1’ ceviz çeşidinin özellikle flavan-3-ol ve flavonoid türevleri bakımından dikkat çekici bir fitokimyasal profile sahip olduğu görülmektedir. Analiz sonuçları, yaprak dokusunda belirli fenolik bileşiklerin yoğun olarak biriktiğini ve bu çeşidin sekonder metabolit üretim potansiyelinin yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Elde edilen bulgular, daha önce farklı ceviz çeşitleri üzerinde gerçekleştirilen araştırmalarla karşılaştırıldığında önemli benzerlikler göstermektedir.

Đorđević ve ark. (2022), ceviz yaprağı ekstraktlarının fenolik kompozisyonunu inceledikleri çalışmalarında flavonoidlerin fenolik asitlere göre daha yüksek düzeylerde bulunduğunu ve özellikle (+) kateşinin toplam flavonoid içeriğine önemli katkı sağladığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada belirlenen 976,388 µg/g düzeyindeki kateşin

konsantrasyonu da söz konusu bulgularla uyumlu olup, ‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarında baskın fenolik bileşiğin kateşin olduğu ortaya konulmuştur. Bu sonuç, çeşidin fitokimyasal karakterinin büyük ölçüde kateşin varlığıyla şekillendiğini ortaya koymaktadır.

Ekstraksiyon sürecinde kullanılan çözücünün özellikleri de elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken önemli bir faktördür. Önem ve Özaydın (2018), ceviz iç kabuğundan hazırladıkları ekstraktlarda metanolün birçok fenolik bileşiğin ekstraksiyonunda etanole göre daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Özellikle kateşin, galik asit ve *p*-kumarik asit gibi bileşiklerin metanol ekstraktlarında daha yüksek miktarlarda bulunduğu belirtilmiştir. Bu çalışmada LC-ESI-MS/MS analizleri için metanol ekstraktının kullanılmış olması, fenolik bileşiklerin bitki dokusundan etkin şekilde kazanılmasına katkı sağlamış olabilir. Ayrıca Gawlik-Dziki ve ark. (2014), cevizin farklı organlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında yaprakların fenolik çeşitlilik bakımından en zengin bitki kısımlarından biri olduğunu vurgulamışlardır. Bu durum, araştırmada yaprak dokusunun tercih edilmesini destekleyen önemli bulgular arasındadır.

Bitkilerde fenolik bileşiklerin dağılımı yalnızca genetik özelliklere değil, aynı zamanda bitki organına ve gelişim dönemine de bağlı olarak değişebilmektedir. Medic ve ark. (2021), *J. regia* türünün farklı dokularında gerçekleştirdikleri analizlerde toplam 91 fenolik bileşik belirlemiş ve fenolik profillerin bitki organlarına göre farklılık gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Araştırmacılar, yaprak ve kabuk dokularında bazı spesifik metabolitlerin yoğunlaştığını, kök dokularında ise farklı fenolik grupların baskın olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle mevcut çalışmada yalnızca yaprak örneklerinin kullanılmış olması, elde edilen fenolik profilin diğer bitki kısımlarından farklılık göstermesini açıklamaktadır.

Fenolojik dönemin de fitokimyasal içerik üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Vieira ve ark. (2019), farklı gelişim dönemlerindeki ceviz yapraklarını karşılaştırdıkları çalışmalarında özellikle flavonoid türevlerinin yaprakların fizyolojik durumuna bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yaprakların sararmasıyla kuersetin türevlerinin daha fazla düzeylerde bulunduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada da kuersetin, luteolin-7-glikozit ve taksifolin gibi flavonoid bileşiklerin belirlenmiş olması, ‘Kaman 1’ çeşidinin aktif bir flavonoid biyosentez kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Söz konusu bileşiklerin bitkilerde oksidatif stresin azaltılması, çevresel koşullara uyum ve fitopatojenlere karşı savunma mekanizmalarında görev aldığı bilinmektedir. Benzer şekilde Santos ve ark. (2013), ceviz yapraklarının fenolik

bileşimini inceledikleri çalışmalarında kuersetin türevlerinin ekstraktlarda önemli bileşenler arasında yer aldığını bildirmişlerdir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, LC-ESI-MS/MS analizlerinden elde edilen sonuçlar ‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarının kateşin, luteolin-7-glikozit ve taksifolin başta olmak üzere çeşitli biyoaktif fenolik bileşikler bakımından zengin olduğunu ortaya koymaktadır. Farklı savunma mekanizmalarında rol oynadığı bilinen bu bileşiklerin yüksek düzeylerde bulunması, ekstraktların biyolojik aktivite potansiyelini desteklemektedir. Dolayısıyla belirlenen fitokimyasal profilin, araştırmanın ilerleyen bölümlerinde değerlendirilen *A. alternata*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *M. fructigena* ve *P. infestans* üzerindeki antifungal etkilerin açıklanmasında önemli bir biyokimyasal temel oluşturduğu düşünülmektedir.

4.2. Antifungal Aktivite Sonuçları

4.2.1. Etanol ekstraktının antifungal aktivitesi

‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarından hazırlanan etanol ekstraktının antifungal etkinliği, bitkisel üretimde önemli ekonomik kayıplara neden olan *A. alternata*, *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, *M. fructigena* ve *P. infestans* türleri üzerinde *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, ekstrakt konsantrasyonundaki artışın test edilen etmenlerin miselyal gelişim inhibisyonunun artırdığını ve bu etkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir.

Denemelerde kullanılan negatif kontrol grubunda herhangi bir inhibisyon gözlemlenmemiştir. Bu durum, uygulanan yöntemin güvenilirliğini ve deney koşullarının uygunluğunu doğrulamaktadır.

Antifungal aktivite sonuçları incelendiğinde, etanol ekstraktının en yüksek etkiyi *P. infestans* etmeni üzerinde gösterdiği belirlenmiştir. Uygulanan en yüksek doz olan 8,00 mg/mL konsantrasyonunda, söz konusu etmende %79,95 oranında miselyal gelişim inhibisyonu sağlanmıştır. Bu değer, ekstraktın özellikle *P. infestans* üzerinde güçlü bir biyolojik aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Tablo 4.2).

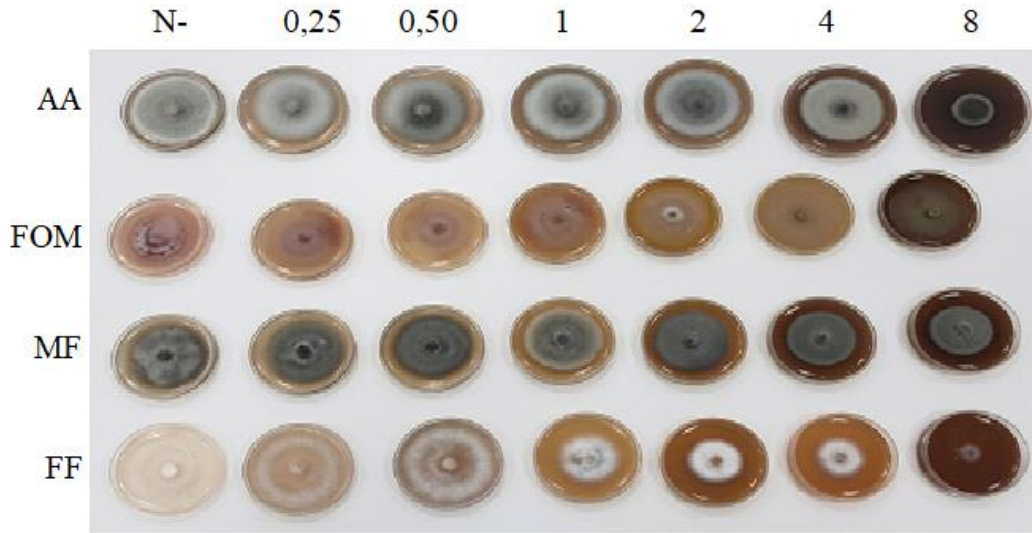
Test edilen diğer etmenler arasında en yüksek ikinci inhibisyon oranı *A. alternata*’da belirlenmiş olup, aynı konsantrasyonda %62,18 düzeyinde baskılama olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık düşük doz uygulamalarında (0,25 ve 0,50 mg/mL) antifungal etkinliğin daha sınırlı kaldığı ve inhibisyon oranlarının belirli ölçüde azaldığı gözlenmiştir. Bu durum, etanol ekstraktının antifungal etkisinin doza bağlı olarak arttığını göstermektedir (Tablo 4.2).

‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı etanol ekstraktının test edilen etmenler üzerinde farklı düzeylerde antifungal aktivite gösterdiği ve etkinliğin uygulanan ekstrakt miktarına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir. Farklı dozlarda ortalama inhibisyon değerleri ile varyans analizi (ANOVA) sonucunda belirlenen istatistiksel gruplandırmalar Tablo 4.2’de verilmiştir. Ekstrakt uygulamalarına bağlı olarak test edilen etmenlerin miselyal gelişimlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.2. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi

Doz (mg/mL)	<i>A. alternata</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>P. infestans</i>
Kontrol-	0,00±0,00e	0,00±0,00d	0,00±0,00d	0,00±0,00e
0,25	7,95±1,49d	18,70±1,38c	13,04±0,77c	5,68±2,23d
0,5	9,28±1,03d	20,23±1,37c	14,41±1,81bc	10,17±2,36d
1	17,70±3,40c	27,79±1,19b	18,68±1,96bc	36,19±0,46c
2	19,47±3,10c	29,03±2,16b	22,30±1,78b	47,38±0,97c
4	28,88±2,53b	34,09±2,37a	33,49±1,96a	48,99±1,09b
8	62,18±1,45a	37,61±1,87a	41,17±0,41a	79,95±2,66a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar, ANOVA testine göre anlamlı düzeyde farklı değildir, $\alpha = 0,05$



Şekil 4.1. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı miselyum gelişimi üzerine etkisi (N-: Negatif Kontrol (DMSO), AA: *A. alternata*, FOM: *F. Oxysporum* f. sp. *melonis*, MF: *M. Fructigena*, FF: *P. infestans*)

Etanol ekstraktının test edilen etmenler üzerindeki etkinliğini daha ayrıntılı değerlendirebilmek amacıyla, her bir etmen türü için miselyal gelişimi %50 oranında engelleyen letal konsantrasyon (LC_{50}) değerleri hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.3’te sunulmuştur. Toksikolojik değerlendirmelerde LC_{50} değerinin düşük olması,

ilgili ekstraktın daha düşük dozlarda etkili olabildiğini ve dolayısıyla hedef organizma üzerinde daha güçlü bir biyolojik aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir.

Hesaplanan LC₅₀ değerleri incelendiğinde, ‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı etanol ekstraktının en yüksek antifungal etkinliği *M. fructigena* ve *P. infestans* üzerinde gösterdiği belirlenmiştir. Her iki etmen için de LC₅₀ değeri 2,62 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Bu sonuç, söz konusu türlerin ekstraktta bulunan biyoaktif bileşiklere karşı yüksek düzeyde duyarlılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Test edilen etmenlerden *A. alternata* için belirlenen LC₅₀ değeri 7,59 mg/mL olup, bu türün etanol ekstraktına karşı orta düzeyde hassas olduğu değerlendirilmiştir. Buna karşılık, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* için hesaplanan 40,68 mg/mL’lik LC₅₀ değeri, araştırmada test edilen etmenler arasında en düşük duyarlılığın bu türde belirlendiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, etanol ekstraktının etmen üzerinde istenilen düzeyde etkili olabilmesi için daha yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Ayrıca probit analizlerinden elde edilen eğim (slope) değerleri de patojenlerin ekstraktta gösterdikleri biyolojik reaksiyonun değerlendirilmesine katkı sağlamıştır. *F. oxysporum* f. sp. *melonis* için hesaplanan 0,46’lık eğim değerinin diğer etmenlere göre daha düşük olması, konsantrasyon artışına bağlı olarak meydana gelen inhibisyonun daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir (Tablo 4.3). Bu durum, bu tür için ekstraktın antifungal etkilerine karşı görece daha dirençli bir yanıt oluşturduğunu desteklemektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, LC₅₀ analizleri ‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı etanol ekstraktının özellikle *M. fructigena* ve *P. infestans* üzerinde yüksek düzeyde fungisidal potansiyeli olduğu, buna karşın *F. oxysporum* f. sp. *melonis*’in daha toleranslı bir reaksiyon gösterdiği ortaya koymuştur. Sonuçlar, etmenler arasındaki duyarlılık farklılıklarının ekstraktın biyolojik etkinliğinde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir.

Tablo 4.3. Etanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi öldürücü doz (LC₅₀) değerleri (mg/mL)

Ekstrakt	Değer	<i>A. alternata</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>P. infestans</i>
Etanol	LC ₅₀ (mg/mL)	7,59	40,68	2,62	2,62
	Eğim	1,11±0,125	0,46±0,108	0,63±0,114	1,46±0,124
	Ki-kare	12,85	0,33	1,4	12,98

Elde edilen inhibisyon oranları (Tablo 4.2) ile LC₅₀ değerlerine ilişkin sonuçlar (Tablo 4.3), etanol ekstraktının antifungal özelliklerini inceleyen önceki araştırmalarla genel olarak uyumludur. Kocaçalışkan ve ark. (2018), ceviz yaprağından elde edilen

etanol ekstraktlarının çeşitli fitopatojen funguslar üzerinde etkili olduğunu ifade etmiştir. Ancak bu etkinin patojen türüne bağlı olarak değişebildiğini bildirmiştir. Bu çalışmada da benzer şekilde, ‘Kaman 1’ etanol ekstraktının *P. infestans* üzerinde yüksek düzeyde engelleme etkisi gösterirken, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* üzerinde daha sınırlı bir etkinlik göstermesi, test edilen etmenler arasındaki duyarlılık reaksiyonu farklılıklarını ortaya koymaktadır.

Stompor-Chrzan (2002) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, ceviz yaprağı ekstraktlarının *A. alternata* ve *F. oxysporum* türlerinin miselyal gelişimini önemli ölçüde sınırlandırdığı belirtilmiştir. Araştırmamızda özellikle *A. alternata* etmeni üzerinde elde edilen inhibisyon değerleri, söz konusu bulgularla benzerlik göstermekte ve ekstraktın bu patojene karşı dikkate değer bir biyolojik aktiviteye sahip olduğunu desteklemektedir. Bununla birlikte Balkan ve ark. (2014), ceviz yaprağı ekstraktlarının *F. oxysporum* gelişimini etkili bir şekilde engellemeyeceğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmada *F. oxysporum* f. sp. *melonis* etmeni için belirlenen yüksek LC₅₀ değeri ve görece düşük inhibisyon oranları, bu sonucun ‘Kaman 1’ çeşidi için de geçerli olabileceğini göstermektedir.

Ekstraktların antifungal etkisinin altında yatan mekanizmaların fenolik ve diğer biyoaktif bileşiklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Arslan ve ark. (2025), ceviz yapraklarında bulunan fenolik yapıların fungal hücre zarının geçirgenliğini değiştirerek hücresel fonksiyonların bozulmasına neden olabileceğini bildirmiştir. Bu durum, çalışmamızda gözlenen miselyal gelişim gerilemelerini açıklayan olası mekanizmalardan biri olarak değerlendirilebilir.

Elde edilen tüm veriler bütünüyle ele alındığında, , ‘Kaman 1’ ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen etanol ekstraktının bazı fitopatojenlere karşı önemli düzeyde antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte, etkinliğin tüm fitopatojenlerde aynı düzeyde gerçekleşmediği, hedef organizmanın biyolojik ve genetik özelliklerine bağlı olarak farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlar, ‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı etanol ekstraktının bitki hastalıklarıyla mücadelede doğal kökenli bir biyofungisit adayı olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

4.2.2. Metanol ekstraktının antifungal aktivitesi

‘Kaman 1’ ceviz çeşidinin yapraklarından elde edilen metanol ekstraktının, test edilen fungal etmenler üzerindeki biyofungisidal etkinliği, doz-reaksiyon korelasyonu esas alınarak *in vitro* koşullarda analiz edilmiştir. Elde edilen veriler, metanol ekstraktının

test edilen etmenler üzerinde konsantrasyon artışına paralel olarak yükselen bir engelleme etkisi gösterdiğini ve bu hücrel baskılanmanın istatistiksel açıdan anlamlı ($p < 0,05$) olduğunu kanıtlamaktadır. Negatif kontrol grubunun herhangi bir inhibasyon etkisi saptanamamış olup, ‘Kaman 1’ metanol ekstraktının özellikle *P. infestans* üzerinde dikkate değer bir baskılama kapasitesine sahip olduğu saptanmıştır.

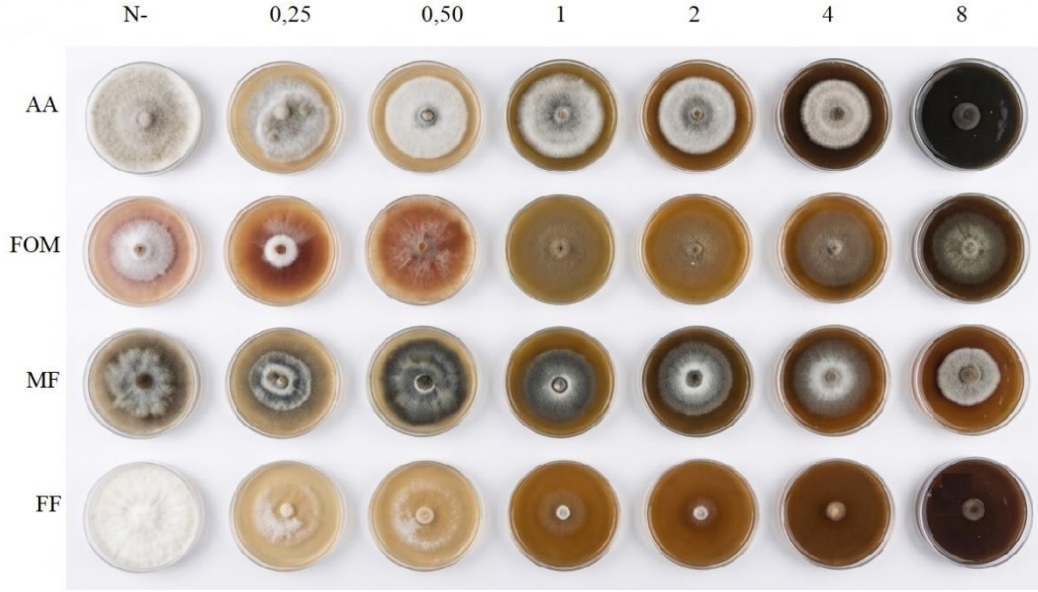
Sonuçlar incelendiğinde, *P. infestans* etmenine karşı sadece 1,00 mg/mL dozunda bile %55,13 seviyesinde olan miselyal inhibisyon oranının, uygulanan en yüksek doz olan 8,00 mg/mL konsantrasyonunda %82,40 seviyesine ulaşarak ekstraktın bu patojen üzerindeki güçlü biyokontrol potansiyelini ortaya koyduğu görülmektedir. *A. alternata* etmeni üzerinde de belirgin bir biyolojik etkinlik gözlenmiş olup, 8,00 mg/mL dozunda %67,71’lik bir engelleme düzeyi kaydedilmiştir. Buna karşın, *M. fructigena* ve *F. oxysporum* f. sp. *melonis* türlerinin metanol ekstraktına karşı daha dirençli bir profil gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle *F. oxysporum* f. sp. *melonis* patojeni, 0,25 mg/mL dozunda hiçbir duyarlılık göstermezken, uygulanan en yüksek dozda bile %30,03 inhibisyon oranında kalarak ekstrakta en az hücrel yanıt veren etmen olmuştur.

Farklı doz uygulamalarına bağlı olarak elde edilen ortalama inhibisyon yüzdeleri ve varyans analizi (ANOVA) sonuçlarına göre belirlenen istatistiksel önem grupları detaylı biçimde Tablo 4.4’te sunulmuştur. Test edilen etmenlerin miselyum gelişimlerinde gözlemlenen azalma ise Şekil 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.4. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı biyofungisit aktivitesi

Doz (mg/mL)	<i>A. alternata</i>	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>melonis</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>P. infestans</i>
Kontrol-	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^e	0,00±0,00 ^d	0,00±0,00 ^e
0,25	13,29±6,65 ^d	0,00±0,00 ^e	16,13±0,99 ^c	23,31±1,78 ^d
0,5	21,32±2,65 ^{cd}	11,68±1,30 ^d	17,17±0,60 ^c	23,83±0,68 ^d
1	24,88±1,76 ^{cd}	17,69±1,11 ^c	31,97±3,21 ^b	55,13±1,64 ^c
2	33,10±1,59 ^{bc}	24,43±1,36 ^b	32,51±1,47 ^b	72,10±0,59 ^b
4	39,37±1,53 ^b	27,65±2,77 ^{bc}	36,62±1,48 ^b	80,71±0,74 ^a
8	67,71±7,65 ^a	30,03±3,20 ^a	42,72±2,59 ^a	82,40±0,77 ^a

Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar, ANOVA testine göre anlamlı derecede farklı değildir, $\alpha = 0,05$



Şekil 4.2. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı miselyum gelişimi üzerine etkisi (N-: Negatif Kontrol (DMSO), AA: *A. alternata*, FOM: *F. oxysporum* f. sp. *melonis*, MF: *M. fructigena*, FF: *P. infestans*)

Metanol ekstraktının test edilen etmenler üzerindeki biyofungisidal etkisini daha ayrıntılı ve güvenilir biçimde ortaya koyabilmek amacıyla LC_{50} (letal konsantrasyon) değerleri hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.5'te sunulmuştur. Elde edilen verilere göre, en düşük LC_{50} değeri 0,96 mg/mL olarak belirlenen *P. infestans*, metanol ekstraktına karşı en yüksek duyarlılığı gösteren etmen olmuştur. Bu sonuç, ekstraktın söz konusu patojenin gelişimini %50 oranında baskılamak için oldukça düşük konsantrasyonlarda dahi etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Dolayısıyla *P. infestans*'ın metanol ekstraktındaki biyoaktif bileşiklere karşı belirgin bir hassasiyet gösterdiği söylenebilir.

Etmenlerin hassas reaksiyon sıralaması incelendiğinde, *P. infestans*'ı 9,75 mg/mL LC_{50} değeri ile *A. alternata* etmeni izlemiştir. Diğer taraftan, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* için hesaplanan 10,86 mg/mL'lik LC_{50} değeri, bu türün ekstrakta karşı daha düşük düzeyde hassas olduğunu göstermiştir. Çalışmada değerlendirilen etmenler arasında en yüksek LC_{50} değeri ise 13,56 mg/mL ile *M. fructigena*'da belirlenmiş olup, bu türün metanol ekstraktına karşı en dirençli patojen olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Tablo 4.5. Metanol ekstraktının test edilen etmenlere karşı öldürücü doz (LC₅₀) değerleri (mg/mL)

Ekstrakt	Değer	<i>A. alternata</i>	<i>F. oxysporum</i> <i>f. sp. melonis</i>	<i>M. fructigena</i>	<i>P. infestans</i>
Metanol	LC ₅₀ (mg/mL)	9,75	10,86	13,56	0,96
	Eğim	0,67±0,14	1,37±0,18	0,574±0,14	1,14±0,14
	Ki-kare	0,452	8,86	1,4	6,71

Elde edilen miselyal gelişim inhibisyon oranları (Tablo 4.4) ile letal konsantrasyon sonuçları (Tablo 4.5) birlikte değerlendirildiğinde, bulgularımızın daha önce yer alan çalışmalarla büyük ölçüde örtüştüğü görülmektedir. Özellikle ceviz bitkisinin farklı dokularından elde edilen ekstraktların antifungal özellikleri üzerine yapılan araştırmalar, çalışmamızda ortaya konulan sonuçları destekler niteliktedir.

Wianowska ve ark. (2016), cevizin yeşil kabuk ve yapraklarından elde edilen ekstraktların, başta *A. alternata* ve *P. infestans* olmak üzere önemli bitki patojenlerine karşı belirgin antifungal aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Araştırmacılar, söz konusu etkinliğin yalnızca juglon varlığıyla açıklanamayacağını; ekstraktlarda bulunan çeşitli fenolik bileşiklerin de antifungal mekanizmalara önemli katkılar sağladığını vurgulamıştır. Çalışmamızda LC-MS/MS analizleri sonucunda yüksek düzeylerde belirlenen kateşin ve luteolin türevleri gibi fenolik bileşenlerin varlığı, elde edilen yüksek inhibisyon oranlarının biyokimyasal temelini desteklemektedir. Bu durum, fenolik metabolitlerin patojen gelişimini sınırlandırmadaki kritik rolünü ortaya koymaktadır.

Benzer şekilde Stompor-Chrzan (2002), ceviz yaprağından hazırlanan su ekstraktlarının *A. alternata* gelişimini anlamlı düzeyde sınırlandırdığını rapor etmiştir. Bu çalışmada ise ekstraksiyon işlemlerinde metanol kullanılması sayesinde, biyolojik aktiviteden sorumlu sekonder metabolitlerin daha etkin şekilde ekstrakte edildiği düşünülmektedir. Nitekim *A. alternata* üzerinde belirlenen %67,71'lik inhibisyon oranı, metanol ekstraktının yüksek antifungal potansiyelini açıkça ortaya koymaktadır.

Diğer taraftan Ara ve ark. (2023), ceviz yaprağı ekstraktlarının özellikle *Candida* türleri üzerinde güçlü antifungal etki gösterdiğini bildirmiştir. Her ne kadar söz konusu çalışma insan patojeni fungal türlere odaklanmış olsa da, elde edilen sonuçlar ceviz kaynaklı biyoaktif bileşiklerin geniş spektrumlu antifungal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda, 'Kaman 1' çeşidinden elde edilen metanol ekstraktının fitopatojen funguslara karşı gösterdiği yüksek biyokontrol etkinliği, Ara ve ark. (2023) tarafından bildirilen antifungal potansiyel ile uyumlu bulunmuştur.

Sonuç olarak, inhibisyon verileri, LC₅₀ değerleri ve fitokimyasal analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, ‘Kaman 1’ çeşidi ceviz yaprağı metanol ekstraktının önemli düzeyde antifungal aktiviteye sahip olduğu anlaşılmaktadır. Elde edilen bulgular, bu ekstraktın çevre dostu ve doğal bir biyofungisit kaynağı olarak değerlendirilebileceğini ve sürdürülebilir bitki koruma stratejileri içerisinde kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

4.2.3. Ekstraktların karşılaştırmalı etkinliği

‘Kaman 1’ ceviz çeşidinden elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının, test edilen etmenler üzerindeki *in vitro* antifungal etkileri birlikte değerlendirildiğinde, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün biyolojik aktivite üzerinde belirgin bir etkisinin olduğu görülmüştür. Her iki ekstrakt da artan uygulama dozuyla birlikte patojen gelişimini daha güçlü şekilde baskılamış olsa da, metanol ekstraktının özellikle bazı patojenler üzerinde daha yüksek ve daha kararlı bir antifungal performans gösterdiği belirlenmiştir.

Etmen düzeyinde yapılan değerlendirmelerde, *P. infestans*’ın metanol ekstraktına karşı oldukça hassas olduğu belirlenmiştir. Nitekim 1,00 mg/mL konsantrasyonda metanol ekstraktı %55,13 oranında miselyal gelişimi engellerken, aynı dozda etanol ekstraktı yalnızca %36,19 inhibisyon sağlamıştır (Tablo 4.2 ve Tablo 4.4). Konsantrasyonun 8,00 mg/mL’ye yükseltilmesiyle her iki ekstraktın etkinliği artmış, ancak metanol ekstraktı %82,40’lık inhibisyon oranıyla etanol ekstraktının (%79,95) üzerinde bir performans göstermiştir. Benzer şekilde *A. alternata* üzerinde de metanol ekstraktının daha etkili olduğu belirlenmiş ve en yüksek dozda %67,71 oranında inhibisyon sağladığı tespit edilmiştir. Aynı koşullarda etanol ekstraktının inhibisyonu %62,18 olarak hesaplanmıştır.

Buna karşın *F. oxysporum* f. sp. *melonis* için farklı bir tablo ortaya çıkmıştır. Düşük konsantrasyonlarda etanol ekstraktının daha hızlı bir biyolojik yanıt oluşturduğu gözlenmiştir. Özellikle 0,25 ve 0,5 mg/mL uygulama dozlarında etanol ekstraktı sırasıyla %18,70 ve %20,23 oranlarında inhibisyon sağlarken, metanol ekstraktının 0,25 mg/mL dozunda herhangi bir inhibisyon etkisi sergilemediği saptanmıştır. Bu durum, *F. oxysporum* f. sp. *melonis* etmeninin ekstrakt kompozisyonunda yer alan spesifik bileşenlere karşı seçici bir hassasiyet geliştirebileceğini düşündürmektedir. *M. fructigena* üzerinde ise iki ekstraktın etkileri birbirine oldukça yakın bulunmuştur. En yüksek doz uygulamasında metanol ekstraktı %42,72, etanol ekstraktı ise %41,17 oranında inhibisyon sağlamıştır.

Ekstraktlar arasında ortaya çıkan bu farklılıkların, kullanılan çözücülerin kimyasal özellikleriyle yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Metanolün daha yüksek polariteye sahip olması, bitki dokularındaki antifungal özellik gösteren fenolik ve flavonoid bileşiklerin ekstraksiyonunu daha etkin şekilde gerçekleştirmesine olanak sağlamaktadır. LC-ESI-MS/MS analizlerinde yüksek miktarlarda belirlenen kateşin ve luteolin-7-glikozit gibi biyoaktif bileşiklerin metanol ekstraktında daha yoğun bulunması, belirlenen yüksek antifungal aktivitenin temel nedenlerinden biri olabilir.

Araştırmada elde edilen sonuçlar, daha önce gerçekleştirilen çalışmalarla da büyük ölçüde uyumludur. Kocaçalışkan ve ark. (2018), ceviz yapraklarından elde edilen sulu ve alkollü ekstraktların çeşitli fitopatojenlere karşı önemli düzeyde antifungal etki gösterdiğini ve bu etkinin antibakteriyel etkiden daha belirgin olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada her iki ekstraktın da tüm patojenler üzerinde farklı seviyelerde inhibisyon oluşturması, söz konusu bulguları desteklemektedir.

Arslan ve ark. (2025) tarafından ceviz yapraklarında yoğun olarak bulunan fenolik bileşiklerin, patojen hücre zarının bütünlüğünü bozarak hücresel fonksiyonları olumsuz etkilediği belirtilmiştir. Çalışmamızda özellikle metanol ekstraktının *P. infestans* üzerinde ulaştığı %82,40'lık inhibisyon oranı, bu mekanizmanın olası bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Benzer şekilde Stompor-Chrzan (2002), ceviz yaprağı ekstraktlarının *A. alternata* ve *F. oxysporum* miselyal gelişimini anlamlı düzeyde baskıladığını bildirmiştir. Araştırmamızda *A. alternata* için elde edilen yüksek inhibisyon oranları bu sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Öte yandan Balkan ve ark. (2014), ceviz yaprağı ekstraktlarının *F. oxysporum* gelişimini sınırlı düzeyde engellediğini bildirmiştir. Çalışmamızda bu patojen için hesaplanan yüksek LC₅₀ değerleri (etanol ekstraktında 40,68 mg/mL, metanol ekstraktında 10,86 mg/mL) söz konusu direnç eğilimini desteklemektedir. Wianowska ve ark. (2016) ise ceviz kaynaklı ekstraktların antifungal etkisinin tek bir bileşene bağlı olmadığını, fenolik bileşikler arasındaki etkileşimlerin de biyolojik aktiviteyi şekillendirdiğini ifade etmiştir. Bu bağlamda araştırmamızda belirlenen kateşin, taksifolin ve diğer fenolik bileşiklerin birlikte oluşturduğu fitokimyasal profilin antifungal etkinlikte önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca Ara ve ark. (2023), farklı ceviz genotiplerinin önemli düzeyde antifungal potansiyele sahip olduğunu ortaya koyarak bitkisel kaynaklı biyokontrol uygulamalarının önemine dikkat çekmiştir.

Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde metanol ekstraktının, test edilen etmenlerin çoğunluğuna karşı etanol ekstraktına göre daha yüksek ve daha istikrarlı bir antifungal

aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur. Özellikle *P. infestans* ve *A. alternata* üzerinde elde edilen yüksek inhibisyon oranları, bu ekstraktın biyofungisit geliştirme çalışmalarında dikkate değer bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle metanol ekstraktı, kimyasal fungisit kullanımını azaltmaya yönelik sürdürülebilir bitki koruma stratejilerinde doğal ve çevre dostu bir biyokontrol ajanı olarak yüksek bir kullanım potansiyeline sahiptir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Türkiye'nin önemli yerel ceviz genotiplerinden biri olan 'Kaman 1' (*Juglans regia* L.) çeşidinin yapraklarından elde edilen ekstraktların fitokimyasal içerikleri ile biyolojik aktiviteleri birlikte değerlendirilmiş ve bitki koruma alanında doğal bir biyokontrol ajanı olarak kullanılabilme potansiyeli araştırılmıştır. Gerçekleştirilen LC-ESI-MS/MS analizleri sonucunda incelenen 30 fenolik standart içerisinde miktarı en yüksek olandan en düşük olana doğru sırasıyla: kateşin, luteolin-7-glikozit, taksifolin, kuersetin, galangin, ellagik asit, sesamol, naringenin ve protokatekuik aldehit olmak üzere toplam dokuz fenolik bileşik tespit edilmiş ve miktarları belirlenmiştir. Özellikle flavanol ve flavonoid grubuna ait bileşiklerin varlığı, 'Kaman 1' ceviz çeşidinin zengin bir fitokimyasal yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, ceviz yapraklarının fenolik bileşimi hakkında mevcut literatüre katkı sağlayacak niteliktedir.

Araştırma kapsamında hazırlanan etanol ve metanol ekstraktlarının, bitkisel üretimde önemli hastalık etmenleri arasında yer alan *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*, *Monilinia fructigena* ve *Phytophthora infestans* üzerindeki antifungal etkileri *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir. Sonuçlar, her iki ekstraktın da tüm patojenler üzerinde doza bağlı olarak değişen düzeylerde miselyal gelişimi engellediğini göstermiştir. Özellikle metanol ekstraktı *P. infestans* üzerinde %82,40 oranında inhibisyon sağlarken, etanol ekstraktında bu oran %79,95 olarak belirlenmiştir. Bu yüksek inhibisyon değerleri, ekstraktların önemli bir antifungal potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, gözlenen biyolojik etkinliğin yalnızca tek bir fenolik bileşikten kaynaklanmadığını, ekstrakt bünyesinde bulunan farklı fitokimyasal bileşenlerin birlikte oluşturduğu sinerjik etkileşimlerden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Fenolik asitler, flavonoidler ve diğer biyoaktif bileşiklerin ortak etkileri, patojen gelişiminin engellenmesinde önemli rol oynamış olabilir.

Gelecekte yapılacak çalışmalarda, antifungal etkiden sorumlu bileşiklerin ayrıştırılması ve saflaştırılması, ayrıca bu bileşiklerin fungal hücreler üzerindeki etki mekanizmalarının moleküler düzeyde araştırılması yararlı olacaktır. Bunun yanında laboratuvar koşullarında elde edilen sonuçların uygulamaya aktarılabilmesi için sera ve tarla denemeleriyle desteklenmesi gerekmektedir. Bu süreçte ekstraktların bitkiler üzerindeki koruyuculuk süresi, sistemik taşınım özellikleri ve olası fitotoksik etkileri ayrıntılı olarak tasarlanmalı ve analiz edilmelidir.

Sonuç olarak, 'Kaman 1' ceviz çeşidi yapraklarından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının sahip olduğu zengin fenolik içerik ve ortaya koyduğu antifungal aktivite, bu materyalin sürdürülebilir bitki koruma uygulamalarında değerlendirilebilecek doğal kaynaklardan biri olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, sentetik fungusit kullanımının azaltılmasına yönelik evre dostu alternatiflerin geliştirilmesine katkı sağlayabilecek nitelikte olup, 'Kaman 1' ceviz çeşidinin yapraklarından elde edilen etanol ve metanol ekstraktlarının biyokontrol amaçlı kullanım potansiyeline işaret etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abad, Z. G., Burgess, T. I., Bourret, T., Bensch, K., Cacciola, S. O., Scanu, B., Mathew, R., Kasiborski, B., Srivastava, S., Kageyama, K., Bienapfl, J. C., Verkleij, G., Broders, K., Schena, L., and Redford, A. J. (2023). Phytophthora: Taxonomic and phylogenetic revision of the genus. *Studies in Mycology*, 106, 259-348. <https://doi.org/10.3114/sim.2023.106.05>
- Albayrak, A. (2006). *Ceviz yaprak özütleri ve juglonun bazı mikroorganizmalar üzerine etkileri* (Tez No. 182183) [Yüksek lisans tezi, Dumlupınar Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Amaral, J. S., Seabra, R. M., Andrade, P. B., Valentão, P., Pereira, J. A. and Ferreres, F. (2004). Phenolic profile in the quality control of walnut (*Juglans regia* L.) leaves. *Food Chemistry*, 88(3), 373-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.055>
- Ara, T., Shafi, S., Ghazwani, M., Mir, J. I., Shah, A. H., Qadri, R. A., Hakami, A. R., Khalid, M., Hani, U. and Wahab, S. (2023). *In vitro* potent anticancer, antifungal, and antioxidant efficacy of walnut (*Juglans regia* L.) genotypes. *Agronomy*, 13(5), Article 1232. <https://doi.org/10.3390/agronomy13051232>
- Arji, P., Naseri, A., Rakhshandeh, H. and Najafzadeh, M. J. (2015). Investigation of antifungal activity of methanol and aqueous extracts of walnut (*Juglans regia*) leaves and peel against *Candida* species. *Journals of Birjand University of Medical Sciences*, 22(2), 115-124. <http://journal.bums.ac.ir/article-1-1699-en.html>
- Arslan, M., Önal, A., Çadircı, B. H., Gökçe, S. and Şimşek, M. (2025). Investigation of the antimicrobial activity of herbal cream prepared with aqueous extracts of walnut (*Juglans regia* L.) leaves and shells. *Journal of Integrative and Anatolian Medicine*, 6(3), 149-154. <https://doi.org/10.53445/batd.1809617>
- Ashraf, Z., Beg, A. E., Baig, M. T., Fatima, N., Sohail, T. and Iqbal, S. (2022). Phytochemical and physicochemical analysis of the *in vitro* antimicrobial and antifungal activities of *Juglans regia* L. bark (walnut bark). *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 49(5), 1-11. <https://doi.org/10.55463/issn.1674-2974.49.5.1>
- Balkan, B., Balkan, S., Aydoğdu, H. and Özcan, Ö. (2014). Antifungal activities of *Ailanthus altissima* Swingle and *Juglans regia* L. leaves against some cereal

- fungi. *Journal of Applied Biological Sciences*, 8(1), 76-79.
<https://izlik.org/JA24HG88ZB>
- Brasier, C., Scanu, B., Cooke, D., and Jung, T. (2022). Phytophthora: An ancient, historic, biologically and structurally cohesive and evolutionarily successful generic concept in need of preservation. *IMA Fungus*, 13(1), Article 12.
<https://doi.org/10.1186/s43008-022-00097-z>
- Budak, Y. (2010). *Ceviz yetiştiriciliği*. Samsun İl Tarım ve Orman Müdürlüğü.
<https://www.samsuntarim.gov.tr/ceviz-yetiştiriciliği> (Erişim Tarihi: 25 Ekim 2025).
- Canlıhoş, E., Öztürk, N., Sütyemez, M., Demiray, S. T. ve Hazır, A. (2014). *Ceviz (Juglans regia L.)’de entegre mücadeleye esas oluşturacak bazı çalışmalar ile önemli hastalık ve zararlıların mücadelesinde alternatif yöntemlerin araştırılması* [Proje Raporu/Kitap]. TÜBİTAK (Proje No: 111O652).
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/bmae/Belgeler/Kitap/a4-Ceviz%20kitap%20metin,%2017.03.2015.pdf>
- Chai, C. H., Hong, C. F., and Huang, J. W. (2025). Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 2 in central Taiwan and its potential biocontrol agent. *The Plant Pathology Journal*, 41(3), 352-366.
<https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.01.2025.0012>
- Choub, V., Ajuna, H. B., Won, S.-J., Moon, J.-H., Choi, S.-I., Maung, C. E. H., Kim, C.-W. and Ahn, Y. S. (2021). Antifungal activity of *Bacillus velezensis* CE 100 against anthracnose disease (*Colletotrichum gloeosporioides*) and growth promotion of walnut (*Juglans regia* L.) trees. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19), Makale 10438. <https://doi.org/10.3390/ijms221910438>
- Çoban, F. (2023). *Gibberellik asit, asetil salisilik asit ve katlama uygulamalarının ceviz (Juglans regia L.) tohumlarının çimlenmesi ile çöğür gelişimi üzerine etkileri* (Tez No. 794763) [Yüksek lisans tezi, Harran Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Çoban, İ. (2020). *Chandler, Kaman-1 ve Midland ceviz (Juglans regia) çeşitlerinin fenolojik, pomolojik ve biyokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması* (Tez No. 635378) [Yüksek lisans tezi, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Da Cruz Cabral, L., Terminiello, L., Fernández Pinto, V., Nielsen, K. F., and Patriarca, A. (2016). Natural occurrence of mycotoxins and toxigenic capacity of *Alternaria*

- strains from mouldy peppers. *International Journal of Food Microbiology*, 236, 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.005>
- DeMers, M. (2022). *Alternaria alternata* as endophyte and pathogen. *Microbiology*, 168(3), Article 001153. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001153>
- De Miccolis Angelini, R. M., Landi, L., Raguseo, C., Pollastro, S., Faretra, F., and Romanazzi, G. (2022). Tracking of diversity and evolution in the brown rot fungi *Monilinia fructicola*, *Monilinia fructigena*, and *Monilinia laxa*. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 854852. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.854852>
- Đorđević, T., Đurović-Pejčev, R., Stevanović, M., Sarić-Krsmanović, M., Radivojević, L., Šantrić, L., and Gajić-Umiljendić, J. (2022). Phytotoxicity and allelopathic potential of *Juglans regia* L. leaf extract. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 986740. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.986740>
- Edel-Hermann, V., and Lecomte, C. (2019). Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. *Phytopathology*, 109(4), 512-530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- Engalycheva, I., Kozar, E., Kameneva, A., Sletova, M., Vetrova, S., Chizhik, V., Kornilova, M., and Martynov, V. (2025). Molecular and morphological identification and pathogenicity of *Fusarium* species causing melon wilt in Russia. *Journal of Fungi*, 11(12), Article 888. <https://doi.org/10.3390/jof11120888>
- FAO. (2024). *Crops and livestock products: Walnuts, in shell*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (Erişim tarihi: 30 Nisan 2026).
- Fry, W. (2008). *Phytophthora infestans*: The plant (and R gene) destroyer. *Molecular Plant Pathology*, 9(3), 385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
- Gawlik-Dziki, U., Durak, A., Pecio, Ł. and Kowalska, Iwona. (2014). Nutraceutical potential of tinctures from fruits, green husks, and leaves of *Juglans regia* L. *The Scientific World Journal*, 2014, Article 501392. <https://doi.org/10.1155/2014/501392>
- Golmohammadi, H., Arzanlou, M., Jafary, H., and Bakhshi, M. (2025). Polyphasic characterization and mating type allele distribution of *Monilinia laxa* in Iranian

- stone fruit orchards. *Scientific Reports*, 15, Article 29336. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-15129-y>
- Haghi, E., Rezaie, S., Aghaee, E., Sadighara, P. and Ahmadi, F. (2016). The effect of ethanolic extract of walnut thin shell on the growth of *Aspergillus* spp. *Journal of Food Safety and Hygiene*, 2(3/4), 84-89. <https://jfsh.tums.ac.ir/index.php/jfsh/article/view/109>
- Hamida, T., Boudierba, N. N. and Slimani, A. (2024). The therapeutic effects of *Juglans regia* Linn (Walnut) extracts on oral *Candida* infection. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 5(2), 142-153. <http://dx.doi.org/10.11594/jaab.05.02.01>
- Ivanov, A. A., Ukladov, E. O., and Golubeva, T. S. (2021). *Phytophthora infestans*: An overview of methods and attempts to combat late blight. *Journal of Fungi*, 7(12), Article 1071. <https://doi.org/10.3390/jof7121071>
- Kapluhan, E. (2015). Ziraat coğrafyası açısından bir inceleme: Kaman ilçesinde (Kırşehir) ceviz üretim faaliyetleri. *Marmara Coğrafya Dergisi*, (32), 147-170. <https://doi.org/10.14781/mcd.68149>
- Kayır, Ö., Doğan, H., Alver, E. and Bilici, İ. (2023). Quantification of phenolic component by LC-HESI-MS/MS and evaluation of antioxidant activities of *Crocus ancyrensis* (Ankara çiğdemi) extracts obtained with different solvents. *Chemistry & Biodiversity*, 20(4), Article e202201186. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202201186>
- Khattak, P., Khalil, T. F., Bibi, S., Jabeen, H., Muhammad, N., Khan, M. A. and Liaquat, S. (2022). *Juglans regia* (walnut tree) bark in dentistry: Walnut tree bark in dentistry. *Pakistan BioMedical Journal*, 5(2), 152-156. <https://doi.org/10.54393/pbmj.v5i2.201>
- Kocaçalışkan, İ., Albayrak, A., İlhan, S. and Terzi, İ. (2018). Varietal differences in antimicrobial activities of walnut (*Juglans regia* L.) leaf extracts. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 7(3), 173-180. <https://izlik.org/JA35NB98CW>
- Koç, İ. (2025). Analysis of pyrolysis liquid from green walnut shells (*Juglans regia* L.) and its antifungal activity against pathogenic fungi in ornamental plants. *Applied Ecology and Environmental Research*, 23(5), 8881-8894. http://dx.doi.org/10.15666/aeer/2305_88818894
- Logrieco, A., Moretti, A., and Solfrizzo, M. (2009). *Alternaria* toxins and plant diseases: An overview of origin, occurrence and risks. *World Mycotoxin Journal*, 2(2), 129-140. <https://doi.org/10.3920/WMJ2009.1145>

- Mahdikhani, M. (2016). Genetic variability among *Fusarium oxysporum* isolates from melon (*Cucumis melo*) in Qazvin province, Iran. *Horticultural Biotechnology Research*, 2, 1-7. <https://doi.org/10.19071/jhcbt.2016.v2.2996>
- Martyn, R. D., and Vakalounakis, D. J. (2012). *Fusarium* wilts of greenhouse cucurbits: Melon, watermelon, and cucumber. In *Fusarium Wilts of Greenhouse Vegetable and Ornamental Crops* (pp. 159'-174). APS Press. <https://doi.org/10.1094/9780890544822.019>
- Medic, A., Zamljen, T., Hudina, M. and Veberic, R. (2021). Identification and quantification of naphthoquinones and other phenolic compounds in leaves, petioles, bark, roots, and buds of *Juglans regia* L., using HPLC-MS/MS. *Horticulturae*, 7(9), Article 326. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7090326>
- Michielse, C. B., and Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 10(3), 311'-324. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x>
- Nwosu, M. O. and Okafor, J. I. (1995). Preliminary studies of the antifungal activities of some medicinal plants against *Basidiobolus* and some other pathogenic fungi. *Mycoses*, 38(5-6), 191-195. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.1995.tb00048.x>
- Önem, E. and Özeydin, A. (2018). *Juglans regia* fenolik bileşen içeriklerinin ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi. *Biological Diversity and Conservation*, 11(3), 166-173. <https://izlik.org/JA22FK32SJ>
- Pandey, D. K., Tripathi, N. N., Tripathi, R. D. and Dixit, S. N. (1982). Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *Hyptis suaveolens* / Fungitoxische und phytotoxische Eigenschaften des ätherischen Öis von *Hyptis suaveolens*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz / Journal of Plant Diseases and Protection*, 89(6), 344-349. <https://www.jstor.org/stable/43214961>
- Pereira, J. A., Oliveira, I., Sousa, A., Valentão, P., Andrade, P. B., Ferreira, I. C. F. R., Ferreres, F., Bento, A., Seabra, R. and Estevinho, L. (2007). Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food and Chemical Toxicology*, 45(11), 2287-2295. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.06.004>
- Santos, A., Barros, L., Calhelha, R. C., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C. and Ferreira, I. C. F. R. (2013). Leaves and decoction of *Juglans regia* L.: Different performances regarding bioactive compounds and *in vitro* antioxidant

- and antitumor effects. *Industrial Crops and Products*, 51, 430-436. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.003>
- Schmey, T., Tominello-Ramirez, Christopher S., Brune, C., & Stam, R. (2024). *Alternaria* diseases on potato and tomato. *Molecular Plant Pathology*, 25(3), Article e13435. <https://doi.org/10.1111/mpp.13435>
- Spitaler, U., Pfeifer, A., Deltedesco, E., Hauptkorn, S., and Oettl, S. (2022). Detection of *Monilinia* spp. by a multiplex real-time PCR assay and first report of *Monilinia fructicola* in South Tyrol (northern Italy). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 129, 1013-1020. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00614-7>
- Stompór-Chrzan, E. (2002). Effect of aqueous extracts of aspen, black currant, folded blackberry and walnut leaves on development of pathogenic fungi. *Plant Protection Science*, 38(Special Issue 2), 623-625.
- Sytykiewicz, H., Chrzanowski, G., Czerniewicz, P., Leszczyński, B., Sprawka, I., Krzyżanowski, R. and Matok, H. (2015). Antifungal activity of *Juglans regia* (L.) leaf extracts against *Candida albicans* isolates. *Polish Journal of Environmental Studies*, 24(3), 1339-1348. <https://doi.org/10.15244/pjoes/34671>
- TÜİK. (2025). Ceviz üretim istatistikleri. *Bitkisel Üretim İstatistikleri* (<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=95&locale=tr>). Türkiye İstatistik Kurumu. (Erişim tarihi: 30 Nisan 2026).
- Upadhyay, V. (2011). Antifungal activity and preliminary phytochemical analysis of stem bark extracts of *Juglans regia* linn. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 1(5), 1-6. <https://ijpba.info/index.php/ijpba/article/view/160>
- Vieira, V., Pereira, C., Pires, T. C. S. P., Calhella, R. C., Alves, M. J., Ferreira, O., Barros, L. ve Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phenolic profile, antioxidant and antibacterial properties of *Juglans regia* L. (walnut) leaves from the Northeast of Portugal. *Industrial Crops and Products*, 134, 347-355. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.020>
- Vinogradova, S. A., Kiselev, K. V., and Suprun, A. R. (2026). An overview of the *Alternaria* genus: Ecology, pathogenicity and importance for agriculture and human health. *Journal of Fungi*, 12(1), Article 64. <https://doi.org/10.3390/jof12010064>
- Wianowska, D., Garbaczewska, S., Cieniecka-Rosłonkiewicz, A., Dawidowicz, A. L. ve Jankowska, A. (2016). Comparison of antifungal activity of extracts from

- different *Juglans regia* cultivars and juglone. *Microbial Pathogenesis*, 100, 263-267. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.10.009>
- Yavuz, B. (2010). *Bazı bitki ekstraktlarının fitopatojen funguslara karşı antifungal etkisi* (Tez No. 340079) [Yüksek lisans tezi, Uludağ Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Yılar, M., Bayar, Y., & Abaci Bayar, A. A. (2020). Allelopathic and antifungal potentials of endemic *Salvia absconditiflora* Greuter & Burdet collected from different locations in Turkey. *Allelopathy Journal*, 49(2), 243-256. <https://doi.org/10.26651/allelo.j/2020-49-2-1268>
- Yuen, J. (2021). Pathogens which threaten food security: *Phytophthora infestans*, the potato late blight pathogen. *Food Security*, 13(2), 247-253. <https://doi.org/10.1007/s12571-021-01141-3>
- Zhao, Q., Dong, C., Yang, X., Mei, X., Ran, W., Shen, Q., and Xu, Y. (2011). Biocontrol of *Fusarium* wilt disease for *Cucumis melo* melon using bio-organic fertilizer. *Applied Soil Ecology*, 47(1), 67-75. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.09.010>
- Żurek, N., Pycia, K., Pawłowska, A., Potocki, L. ve Kapusta, I. T. (2023). Chemical profiling, bioactive properties, and anticancer and antimicrobial potential of *Juglans regia* L. leaves. *Molecules*, 28(4), Article 1989. <https://doi.org/10.3390/molecules28041989>

EKLER

EK-1 Kongre Katılım Belgesi



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Kübra CENGİZ
Uyruğu:	T.C.
Orcid Numarası:	0009-0005-9735-3893

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bitki Koruma
Mezuniyet Yılı	2023
Yüksek Lisans	
Üniversite	Kırşehir Ahi Evran
Enstitü Adı	Fen Bilimleri
Anabilim Dalı	Bitki Koruma
Mezuniyet Tarihi	2026

Tezden Üretilen Makaleler ve Bildiriler
Cengiz, K., Bayar, Y. ve Yılar, M. (2026). Palamut meşesi (<i>Quercus ithaburensis</i> Decne.) ekstrelerinin <i>Verticillium dahliae</i> ve <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> üzerine antifungal aktivitesi. I. Öztürk (Ed.), 2 nd International Toros Scientific Research and Innovation Congress, 19-20 May 2026, Mersin - Türkiye: Full Text Book içinde (ss. 185-191). ISPEC Publishing House.
Cengiz, K., Bayar, Y. ve Yılar, M. (2026). <i>Sambucus nigra</i> L. etanol ekstraktlarının <i>Verticillium dahliae</i> ve <i>Alternaria solani</i> üzerine <i>in vitro</i> fungistatik etkisi. I. Öztürk (Ed.), 2 nd International Toros Scientific Research and Innovation Congress, 19-20 May 2026, Mersin - Türkiye: Full Text Book içinde (ss. 192-198). ISPEC Publishing House