

# Biber meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olan bazı fungal hastalık etmenlerine karşı Isothiocyanate bileşiklerinin antifungal etkilerinin belirlenmesi

## *Determination of the antifungal effects of Isothiocyanate compounds against some fungal disease agents that cause postharvest rot in pepper fruits*

Mehmet ATAY<sup>1</sup> , Soner SOYLU<sup>2\*</sup> 

<sup>1</sup>Adıyaman Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 02450 Kahta, Adıyaman, Türkiye

<sup>2</sup>Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 31034 Antakya, Hatay, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-5751-4764>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-1002-8958>

### To cite this article:

Atay, M. & Soyulu, S. (2022). Biber meyvelerinde hasat sonrası çürümelere sebep olan bazı fungal hastalık etmenlerine karşı Isothiocyanate bileşiklerinin antifungal etkilerinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 26(3): 290-302.  
DOI:10.29050/harranziraat.1136632

\*Address for Correspondence:  
Soner SOYLU  
e-mail:  
soylu@mku.edu.tr

Received Date:  
27.06.2022  
Accepted Date:  
26.07.2022

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

### öz

Depolanmış ürünlerde sorun olan fungal hastalık etmenleri, hasat sonrası ürünlerde kaliteyi sınırlandıran önemli faktörlerden biridir. Hasat sonrası kurutulmalık biberler mikotoksin üreten fungal patojenler tarafından çok sık enfekte olmaktadır. *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* ve *Fusarium incarnatum*, birçok bitkide hasat öncesi ve sonrası dönemlerde hastalıklara neden olan potansiyel mikotoksin üretebilen önemli fungal etmenlerdir. *Brassica* spp. tarafından üretilen ve geniş antimikrobiyal etkiye sahip olan isothiocyanate (ITC)'lar, glukozinolatların biyolojik olarak aktif bozulma ürünleri ile bağlantılı allelokimyasal bileşiklerdir. Bu çalışmada, farklı kimyasal yapıdaki isothiocyanate bileşiklerden methyl isothiocyanate (MITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC) ve ethyl isothiocyanate (EITC)'ın *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* ve *Fusarium incarnatum* izolatlarına karşı *in vitro* antifungal etkileri araştırılmıştır. Test edilen *Fusarium incarnatum*, *Aspergillus niger* ve *Alternaria alternata*'nın misel gelişimini tamamen engelleyen konsantrasyonları (MIC) baz alındığında en yüksek antifungal etkinlik MITC tarafından sırasıyla 0.06, 0.09 ve 0.09 µl petri<sup>-1</sup> konsantrasyonlarında gösterilmiştir. En düşük antifungal aktivite ise *A. niger* ile *F. incarnatum*'a karşı EITC (0.15 ve 0.21 µl petri<sup>-1</sup>), *A. alternata*'ya karşı ise AITC ve BITC (0.21 µl petri<sup>-1</sup>) tarafından gösterilmiştir. Farklı yapıdaki ITC'ların MIC değerlerinde genelde fungisidal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, oldukça düşük konsantrasyonlarda antifungal etkinlik gösteren isothiocyanate'ların, depolanmış tarımsal ürünlerde bozulmalara neden fungal etmenlere karşı fumigant olarak uygulanabilir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antifungal, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium incarnatum*, isothiocyanate, mikotoksin

### ABSTRACT

Fungal disease agents, which are the problem in stored products, are one of the important factors limiting the quality of post-harvest products. Dried peppers are very often infected by fungal pathogens that produce mycotoxins. *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* and *Fusarium incarnatum* are important fungal agents that can produce potential mycotoxins that cause disease in many plants in the pre- and post-harvest periods. The isothiocyanates (ITCs), produced by *Brassica* spp. and having broad antimicrobial activity, are allelochemical compounds with antimicrobial activities associated with the biologically active degradation products of glucosinolates. In this study, the *in vitro* antifungal effects of different isothiocyanate compounds such as methyl isothiocyanate (MITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC) and ethyl isothiocyanate (EITC) were investigated against

*Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* and *Fusarium incarnatum* isolates. Based on the minimum inhibition concentrations (MIC) that completely inhibit mycelial growth, the highest antifungal activity was displayed by MITC against *Fusarium incarnatum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata* at 0.06, 0.09 and 0.09  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> concentrations, respectively. The lowest antifungal activities were shown by EITC against *A. niger* and *F. incarnatum* at 0.15 and 0.21  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>, and by AITC and BITC against *A. alternata* at the concentration of 0.21  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>. In addition, It has been determined that ITCs compounds generally have fungicidal effects at MIC values. The results showed that isothiocyanates, which have antifungal activity at very low concentrations, have the potential to be applied as a fumigant against fungal agents that cause spoilage in stored agricultural products.

**Key Words:** Antifungal, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Fusarium incarnatum*, isothiocyanate, mycotoxin

## Giriş

Biber (*Capsicum annuum* L.), Solanaceae familyasında yer alan, meyveleri gerek taze olarak gerekse de kurutmalık/baharat olarak tüketilen sebzelerden biridir. İnsan sağlığı açısından da önemli bir yere sahip olan biber meyvesi, kanserojen maddelere karşı koruyucu ve yaşlanma sürecini geciktirici etkileri olan karotenoidler (provitamin A) ve C vitamini gibi bazı antioksidan maddeler yönünden zengindir (Howard ve ark., 1994; Simonne ve ark., 1997; Wien, 1997). Dünya Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)' nün 2020 yılı üretim istatistik verilerine göre Türkiye taze biber üretiminde Dünyada 4. kurutmalık biber üretiminde ise 24. sırada yer almıştır (Anonymous, 2022).

Tarımsal ürünler gerek tarla koşullarında gerekse hasat edildikten sonra depolanmaları sırasında başta funguslar olmak üzere birçok hastalık etmeni tarafından enfekte edilirler (Tripathi ve Dubley, 2004; Shukla ve ark., 2009; Prakash ve ark., 2011). Söz konusu etmenlerden fungal etmenler hasat sonrası ürünlerde gelişmeleri ve hastalık oluşturmalarının yanısıra geliştikleri ürünler içerisinde mikotoksin olarak bilinen sekonder metabolitleri üreterek ayrıca zarara neden olurlar. Mikotoksin üreten fungal etmenler tarafından en sık enfektelenen bitkisel ürünlerden biri de biber olup (Duman, 2010) özellikle kurutmalık olarak tüketilen biberler üzerinde üretilen mikotoksinlerden kaynaklı ürün kayıpları son zamanlarda önemli bir boyuta ulaşmıştır (Ham ve ark., 2016). Mikotoksinlerin, 400'e yakın farklı üründe oluşturulduğu saptanmış olmakla beraber bunların doğrudan veya dolaylı şekilde insan ve hayvanlarda önemli sağlık sorunlarına sebep oldukları bir çok çalışmada

bildirilmiştir (Hussein ve Brasel, 2001; Smith, 2001; Weidenböner, 2014; Hontanaya ve ark., 2015; Öksüztepe ve Erkan, 2016).

Farklı fungus türleri mikotoksin oluşumuna neden olmakla beraber özellikle *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Fusarium* cinslerine ait türlerin en önemli mikotoksin üreticisi türlerin başında gelir (McKee, 1995; Kabak ve Dobson, 2017). Hasat sonrası birçok bitkisel üründe gelişebilen *Aspergillus* türleri daha çok Aflatoxin (McKee, 1995; Uylaşer ve ark., 2005), önemli bitki patojenlerini de içeren *Alternaria* türleri Alternariol (AOH) ve Alternariol monometil (Yiannikouris ve Jouany, 2002), *Fusarium* spp. ise deoxynivalenol ve fumonisin (Hussein ve Brasel, 2001; Smith, 2001) gibi farklı mikotoksinleri ürettikleri bildirilmiştir.

Mikotoksin oluşumuna neden funguslarla mücadelede başvurulan yöntemlerin başında genellikle kimyasal pestisilerin kullanımı gelmektedir. Ancak aşırı derecede kimyasal pestisit kullanımı sonrası çevre, doğa ve insan sağlığında meydana gelen ciddi olumsuzlukların yanısıra, fungal etmenlere karşı kullanılan pestisitlere zamanla hastalık etmenlerinin dayanıklılık kazanması ve insanların kimyasal kullanımı konusunda son yıllarda bilinçlenmesiyle beraber biyolojik mücadele ajanı mikroorganizmalar, bitki uçucu yağ ve ekstraktlar ve antimikrobiyal etkinliğe sahip nanopartiküllerin etkinliklerinin irdelendiği alternatif mücadele yöntemlerinin araştırılması zorunluluğu ortaya çıkmıştır (Clifford ve Lester, 1988; Smith, 2001; Soliman ve Badaea, 2002; Dwivedy ve ark., 2016; Şahin ve ark., 2021; Kara ve ark., 2022; Soylu ve ark., 2022; Türkmen ve ark., 2022).

Günümüzde, depolanan tarımsal ürünlerde sorun olan fungal etmenle mücadelede

kimyasallara alternatif olabilecek farklı bitkisel ve biyolojik mikrobiyal kökenli mücadele yöntemleri araştırılmış olmakla beraber (Soylu ve ark., 2010; Atay ve ark., 2020; Soylu ve ark., 2022) son zamanlarda doğal bitkisel kökenli bileşiklerden olan isothiocyanate'ların (ITC) antifungal/antibakteriyel etkileri üzerine araştırmalarda önem verilmeye başlanmıştır. Özellikle lahana, brokoli, karnabahar ve turp gibi bazı Brassicaceae familyası bitkilerine ait Glukosinolatlarının enzimatik hidrolizinden elde edilen biyoaktif bileşik grubu olan isothiocyanate'ların, hasat öncesi ve sonrası ürünlerde hastalık oluşturan farklı bitki patojenlerine karşı güçlü antimikrobiyal etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Delaquis ve Mazza, 1995; Mari ve ark., 1996; Mari ve ark., 2008; Troncoso-Rojas, 2009; Kurt ve ark., 2011; Wu ve ark., 2011; Ugolini ve ark., 2014; Dufour ve ark., 2015; Manyes ve ark., 2015; Kara ve Soylu, 2020).

Bu çalışmada, Türkiye ekonomisine önemli derecede katkıları olan biberde, özellikle hasat öncesi ve sonrası dönemlerde meyvelerde mikotoksin oluşturma potansiyeline sahip fungal etmenlerden *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium incarnatum* ile kimyasal mücadeleye alternatif olabilecek farklı kimyasal yapıdaki ITC bileşiklerinden olan methyl isothiocyanate (MITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC) ve ethyl isothiocyanate (EITC) bileşiklerinin misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antifungal etkileri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

## Materyal ve Metot

### *Isothiocyanate (ITC) bileşikleri*

Çalışmadaki fungal etmenlere karşı antifungal etkileri araştırılan Isothiocyanate'ler olan methyl isothiocyanate (MITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC) ve ethyl isothiocyanate (EITC) saf olarak, ticari firmadan (Sigma-Aldrich Chemical Company, Switzerland) tedarik edilmiştir. ITC'lerin antifungal etkilerinin belirleneceği denemeler öncesi her bir

bileşik etanol ile seyreltilmiş ve çalışmada hazırlanan stok çözeltileri kullanılmıştır (Kara ve Soylu, 2020).

### *Fungal izolatlarının biberlerden izolasyonu, tanınması ve patojenisite testleri*

*Aspergillus niger* ve *Alternaria alternata* izolatları, Hatay ilinin önemli biber ekim alanlarındaki tarlalardan hasat aşamasındaki taze biberlerle, kurutmalık biber satışı yapan aktarlardan veya kurutulmuş kırmızı baş biberlerden PDA besi yeri üzerinde yapılan izolasyonlar sonrası elde edilmiştir. Hastalıklı olduğundan şüphelenilen biber meyvelerinden sırasıyla; hastalıklı ve sağlıklı kısımları içerecek kare şeklinde (0.5- 1 cm) kesitler alınarak bunlarda yüzey sterilizasyonu yapılmış, kesitlerin daha sonra 50 µg ml<sup>-1</sup> streptomisin sülfat antibiyotik içeren PDA besi ortamına ekimleri yapılmış ve 25 °C'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır (Atay ve ark., 2020). İnkübasyon sonunda besi ortamlarında gelişen fungus misellerinden saflaştırma işlemleri yapılmıştır. Elde edilen saf izolatlardan geliştirilen tek spor izolatların tür teşhisleri gerek morfolojik yöntemlerle (Dugan, 2006), gerekse moleküler ve MALDI-TOF tanılama teknikleri kullanılmak suretiyle belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2020).

Tür teşhisleri yapılmış fungal izolatların biberde patojen olup olmadıklarının belirlenmesi için sağlıklı biber meyvelerinde iki şekilde patojenisite testi yapılmıştır. Birinci yöntemde spor süspansiyonları sağlıklı olgunlaşmış kırmızı biberlere hiçbir şekilde zarar vermeden doğrudan meyve içerisine (50 µl biber<sup>-1</sup>) steril enjektör yardımı ile inoküle edilmiştir. İkinci yöntemde sağlıklı olgunlaşmış kırmızı biber meyveleri uç kısımlarından steril bistürü ile kesilip, aseptik olarak doku içerisine 1 adet 6 mm çapında 5 günlük fungus kültüründen alınan fungus misel disklerinin biber meyvesi içerisine yerleştirildikten sonra kesilen dokunun parafilm ile sarılması ile yapılmıştır. Her iki şekilde de inokulasyonu yapılmış biber meyveleri önce 15x25x15 cm ebatlarında steril plastik saklama kapları içerisine konulmuştur. Kapların tabanına önceden steril su

ile ıslatılmış kurutma kağıtları yerleştirilerek gerekli nem koşulları sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanmış ve kapağı kapalı kutular daha sonra 16:8 aydınlık/karanlık foto periyoda, 20-24 °C sıcaklığa ayarlanmış inkübatörlerde 5-10 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonrası inokulasyon noktalarında tipik hastalık belirtileri gözlenmiş ve gelişen belirtilerden rezolatlar elde edilmiştir. Saf fungus izolatları *in vitro* etkinlik denemelerinde kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmişlerdir.

#### *ITC bileşiklerinin antifungal etkilerinin belirlenmesi*

ITC bileşiklerinin fungal izolatların misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri *in vitro* koşullarda cam petri kaplarında (90 mm çapındaki) bulunan PDA besi yeri üzerinde araştırılmıştır (Şekil 2 ve Şekil 4). PDA besi yeri içeren (20 ml µl petri<sup>-1</sup>) petri kaplarının merkezine, bir haftalık taze fungus kültürünün 6 mm çapındaki misel diskleri, miselli yüzey besi yeri ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Petri kabının üst kapağının iç yüzeyinin merkezine yapıştırılmış steril filtre kağıdına (6 mm çapında) ise mikro pipet yardımı ile ITC bileşiklerinin farklı dozları (0.09-0.21 µl petri<sup>-1</sup>) emdirilmiş, uygulama yapılır yapılmaz hızlı bir şekilde kapak kapatılarak sızdırma olmaması açısından petriler parafilm ile 2-3 kez sarılmıştır. Daha sonra ise petriler ters çevrilmiş bir biçimde (üst kapak altta kalacak şekilde) 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu petrilere de aynı yöntemle fungus diskleri yerleştirilmiş fakat filtre kağıdına ITC bileşikleri yerine sadece steril saf su emdirilmiştir. Kontrol grubu petrilerindeki misel gelişimi tüm petri yüzeyini kapladığı zaman uygulama yapılan petrilerdeki fungus koloni çapları ölçülerek sonuçlar kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. Her bir ITC bileşiğinin farklı dozlarının engelleme oranı ise, (%) Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{Engelleme (\%)} = [(KFG-UFG)/KFG] \times 100$$

KFG = Kontrol petrilerdeki fungal gelişim (mm)

UFG = Uygulama yapılmış petrilerdeki fungal gelişim (mm)

#### *ITC bileşiklerinin in vitro koşullarda fungisidal /fungistatik özelliklerinin belirlenmesi*

ITC bileşiklerinin minimum engelleme konsantrasyonlarındaki (MIC) antifungal etkilerinin fungisidal veya fungistatik özellikte olup olmadıklarını belirlemek amacıyla herhangi bir uygulama yapılmamış taze PDA besi yeri içeren petrilere, denemeler sonucu herhangi bir hif gelişimi göstermeyen petrilerinden alınan misel diskleri yerleştirilmiş ve bu petriler 25°C'de 7 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bu misel diskleri, aktarıldıkları yeni PDA besi yeri üzerinde herhangi bir gelişme göstermemişse ITC bileşiğinin antifungal etkisi fungisidal (fungus gelişimini kalıcı şekilde durduran, öldürücü), misel gelişimi yeniden başlamış ise ITC bileşiğinin antifungal etkisi fungistatik (fungus gelişimini geçici şekilde durduran) olarak kayıt edilmiştir.

#### *Deneme deseni ve istatistik analizler*

Çalışmadaki tüm *in vitro* denemeleri her petri 1 ve her ITC uygulaması ise 3 tekrerrür olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre yapılmıştır. Bunun yanısıra yapılan denemeler iki farklı zamanda tekrarlanmıştır. Farklı ITC bileşiği dozlarının petrilerdeki fungus misel gelişimini engellenme oranları % oranlarına çevrilmeden önce SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile varyans analizleri yapılmış ve uygulamalar arasındaki farklılık Tukey HSD Testi ile analiz edilmiştir (P≤0.05). ITC bileşiklerinin farklı dozlarda fungus misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyonları (EC<sub>50</sub>) ise, her bir ITC için farklı konsantrasyonlardan elde edilen değerlerin SPSS istatistik programı (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) yardımı ile Probit analizi yapılmasıyla belirlenmiştir.

#### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

*Kurutmalık biber meyvelerinde çürümelere sebep olan fungal etmenlerin izolasyonu, tanılanması ve patojenisite testleri*

Biber üretim alanlarında yapılan sörveyler sonrası toplanan biber örneklerinden yapılan

izolasyonlar sonucunda farklı koloni morfolojisine ait 40 fungal izolat elde edilmiştir. Elde edilen fungus kolonilerinden yapılan tek spor kültürlerinin morfolojik çalışmaları sonucu en sık karşılaşılmış fungal etmen 8 izolat ile (%20) *Aspergillus niger* olup, bu etmeni 6 izolat (%15) ile *Fusarium incarnatum*, 5 izolat (%12.5) ile *Alternaria alternata* izolatları takip etmiştir. Geri kalan diğer izolatların genelde *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp., gibi fırsatçı saprofit hastalık etmenleri olduğu belirlenmiştir. Gerek en fazla rastlanan türlerden olmaları, gerekse de bitkilerde hasat öncesi ve sonrası önemli hastalıklara sebep olmalarından dolayı bu çalışmada ITC'lerin antifungal etkileri *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium incarnatum*'a karşı araştırılmıştır.

Morfolojik olarak ön teşhisleri yapılmış olan bu türlere ait izolatlar karşı Isothiocyanate bileşiklerinin antifungal etkileri araştırılmadan önce bunlara sağlıklı biber meyveleri üzerinde patojenisite testleri yapılmıştır. Yapılan patojenisite testleri sonrası test meyvelerinde oluşan belirtilerin, etmenlerin izole edildikleri hastalıklı biber meyvelerinde oluşan belirtilerle (içsel çürümeler, misel gelişimi, meyve kabuğunda renk açılmaları ve kararmalar) benzer oldukları belirlenmiştir. Bu meyvelerde yapılan testler sonrası inokulasyon çevresinden elde edilen re-izolatlar için ayrıca orijinal izolatlar uygulanmış

olan benzer teşhis yöntemleri uygulanmış, yapılan teşhis çalışmaları sonrası re-izolatların orijinal izolatlarla aynı türler oldukları belirlenmiş ve böylece bu izolatların biberde patojen oldukları tespit edilmiştir.

#### *Alternaria alternata*'ya karşı farklı ITC bileşiklerinin in vitro antifungal etkilerinin belirlenmesi

*A. alternata*'ya karşı test edilen ITC bileşiklerinin MIC değerlerine bakıldığında etkili bileşiğinin, 0.09 µl petri<sup>-1</sup> dozla methyl isothiocyanate (MITC) olduğu, bunu sırasıyla 0.18, 0.21, 0.21 µl petri<sup>-1</sup> dozları ile ethyl isothiocyanate (EITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC) ve benzyl isothiocyanate (BITC) bileşiklerinin izlediği belirlenmiştir. Yapılan analiz sonucunda *A. alternata*'ya karşı antifungal etkileri araştırılan ITC bileşiklerinin konsantrasyonları arasında farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiş olup (Çizelge 1, Şekil 1).

Yapılan probit analiz sonucunda ITC bileşiklerinin *A. alternata*'nın misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC50) değerleri, MITC için 0.038 µl petri<sup>-1</sup>, EITC için 0.110 µl petri<sup>-1</sup> ve AITC için 0.148 µl petri<sup>-1</sup> olarak hesaplanırken, en yüksek EC<sub>50</sub> değeri BITC için 0.149 µl petri<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır (Çizelge 1 ve Çizelge 4).

Çizelge 1. Farklı ITC dozlarının fungal etmen *A. alternata*'nın misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri

Table 1. Antifungal effects of different ITC doses on mycelial growth of the fungal agent *A. alternata*

Doz (µl/petri)	Farklı ITC bileşiklerinin misel gelişimi (MG) ve engellenmesi (MGI) üzerine olan etkisi							
	Effects of different doses of ITC compounds on mycelial growth (MG) and inhibition (MGI)							
	AITC		BITC		EITC		MITC	
	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)
0	84.0f	0.0	84.0f	0.0	84.0f	0.0	84.0d	0.0
1	77.7e	7.5	73.3e	12.7	73.0e	13.1	48.3c	42.5
2	66.0d	21.4	61.7d	26.6	58.0d	31.0	34.7b	58.7
3	58.3c	30.6	53.0c	36.9	44.7c	46.8	0.0a	100.0*
4	16.7b	80.2	34.0b	59.5	27.0b	67.9	nt	nt
5	0.0a	100.0*	0.0a	100.0*	0.0a	100.0**	nt	nt
EC <sub>50</sub>	0.148		0.149		0.110		0.038	

AITC ve BITC Dozları: 0, 0.09, 0.12, 0.15, 0.18, **0.21** µl petri<sup>-1</sup>; EITC Dozları: 0, 0.06, 0.09, 0.12, 0.15, **0.18** µl petri<sup>-1</sup>; MITC

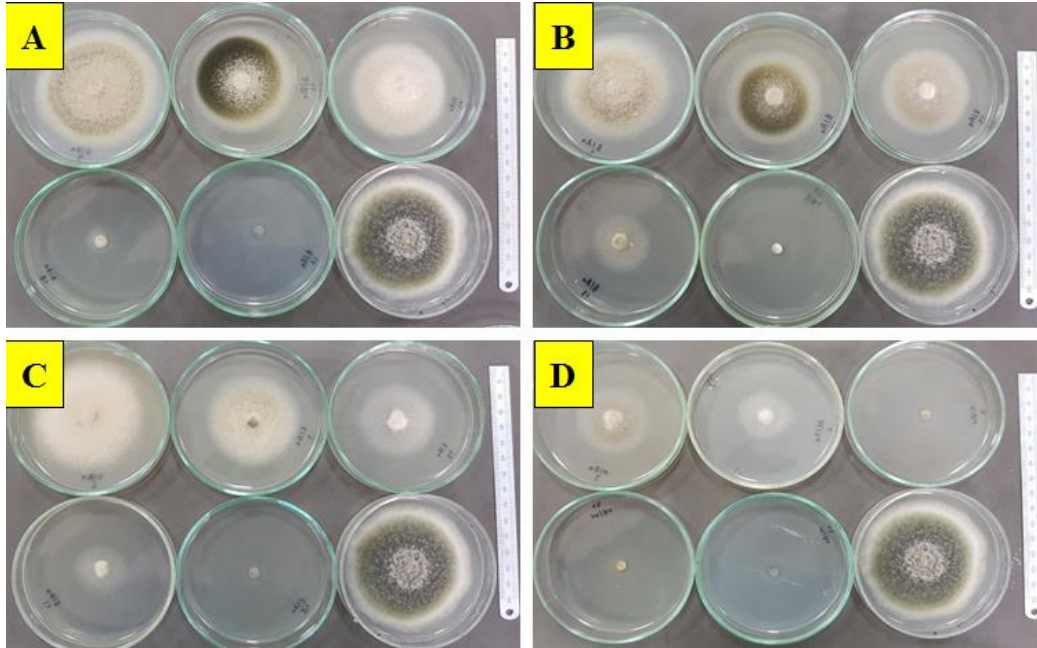
Dozları: 0, 0.03, 0.06, **0.09**, 0.12, 0.15 µl petri<sup>-1</sup>; nt: bu dozda test edilmedi

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler, uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu göstermektedir (P<0.05)

“\*” ve “\*\*”: kullanılan bu dozda gösterilen antifungal etkinin fungisidal (\*) veya fungistatik (\*\*) özellikte olduğunu gösterir

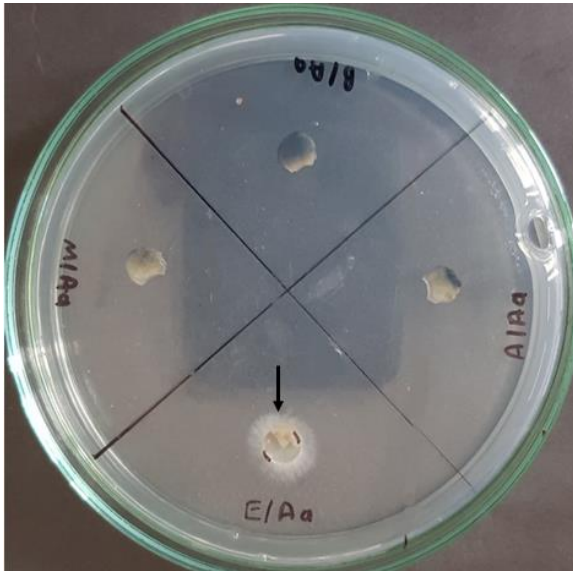
Şekil 2’de görüleceği üzere, *A. alternata*’ya karşı ITC bileşiklerinin fungus misel gelişimini engelleyen MIC değerlerindeki etkinin fungisidal veya fungistatik özelliklerde olduğu saptanmıştır.

ITC’lerden MITC, AITC ve BITC bileşiklerinin **fungisidal**, EITC bileşiğinin ise **fungistatik** etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 1 ve Çizelge 4).



Şekil 1. Farklı ITC bileşiklerinin fungal etmen *A. alternata*’nın misel gelişimini engelleme potansiyellerinin *in vitro* koşullarda araştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC içeren petrilerdeki fungus misel gelişimleri görülmektedir

Figure 1. *In vitro* investigation of the potential of different ITC compounds to inhibit mycelial growth of the fungal agent *A. alternata*. Fungal mycelial growths are seen in petri dishes containing different concentrations of (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC



Şekil 2. *A. alternata*’ya karşı minimum engelleme konsantrasyonunda gerçekleşen antifungal etkinliğin fungisidal/fungistatik özelliğinin belirlenmesi. MIC değerlerinin gerçekleştiği petrilerden alınan misel diskleri yeni PDA besi yerinde aktarıldıklarında sadece EITC’den alınan misel diski (ok) gelişme göstermiştir

Figure 2. Determination of the fungicidal/fungistatic effect against *A. alternata* at the minimum inhibition concentration (MIC). When the mycelial discs from the petri dishes in which the MIC values were realized were transferred to the new PDA medium, only the mycelial disc from the EITC (arrow) showed mycelial development

*Aspergillus niger*’e karşı farklı ITC bileşiklerinin *in vitro* antifungal etkilerinin belirlenmesi

*A. niger*’e karşı test edilen ITC bileşiklerinin MIC değerlerine bakıldığında en etkili bileşiğinin, 0.09  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozla methyl isothiocyanate (**MITC**) olduğu, bu bileşiği sırasıyla 0.12, 0.12, 0.15  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozları ile 2-benzyl isothiocyanate (**BITC**), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (**AITC**) ve ethyl isothiocyanate (**EITC**) bileşiklerinin izlediği belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 3). Yapılan analiz sonucunda *A. niger*’e karşı antifungal etkileri araştırılan ITC bileşiklerinin konsantrasyonları arasında farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiş olup (Çizelge 2) ITC konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeninin misel gelişimini % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinlikleri ise Çizelge 4’de verilmiştir.

Yapılan probit analiz sonucunda ITC bileşiklerinin *A. niger*’in misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) değerleri, MITC için 0.040  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>, BITC için 0.068  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> ve AITC için 0.072  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> olarak belirlenirken, en yüksek EC<sub>50</sub> değeri EITC için 0.086  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır (Çizelge 2 ve Çizelge 4).

Çizelge 2. Farklı ITC dozlarının fungal etmen *A. niger*'in misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri  
 Table 2. Antifungal effects of different ITC doses on mycelial growth of the fungal agent *A. niger*

Doz ( $\mu\text{l}$ /petri)	Farklı ITC bileşiklerin misel gelişimi (MG) ve engellenmesi (MGI) üzerine olan etkisi Effects of different doses of ITC compounds on mycelial growth (MG) and inhibition (MGI)							
	AITC		BITC		EITC		MITC	
	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)
0	82.7e	0.0	82.7e	0.0	82.7f	0.0	82.7e	0.0
1	73.7d	10.9	66.7d	19.4	73.7e	10.9	72.7d	12.1
2	63.7c	23.0	53.7c	35.1	59.7d	27.8	60.0c	27.4
3	43.7b	47.2	47.7b	42.3	46.3c	44.0	50.3b	39.1
4	0.0a	100.0*	0.0a	100.0*	39.3b	52.4	0.0a	100.0**
5	nt	nt	nt	nt	0.0a	100.0*	nt	nt
EC <sub>50</sub>	0.072		0.068		0.086		0.040	

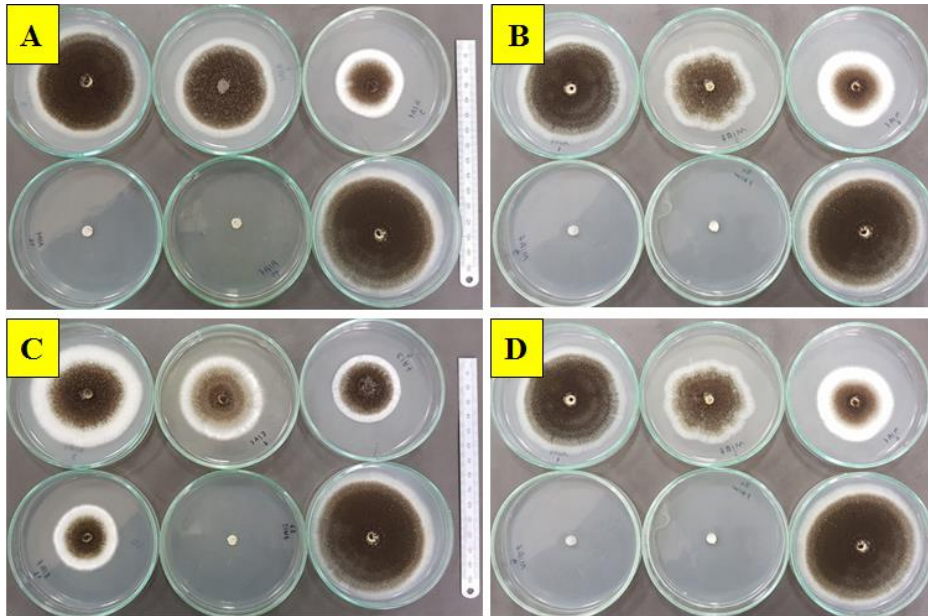
EITC, AITC ve BITC Dozları: 0, 0.03, 0.06, 0.09, **0.12**, **0.15**  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>; MITC Dozları: 0, 0.01, 0.03, 0.06, **0.09**, 0.12  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>; nt: bu dozda test edilmedi

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler, uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu göstermektedir (P<0.05).

"\*" ve "\*\*\*": kullanılan bu dozda gösterilen antifungal etkinin fungisidal (\*) veya fungistatik (\*\*\*) özellikte olduğunu gösterir

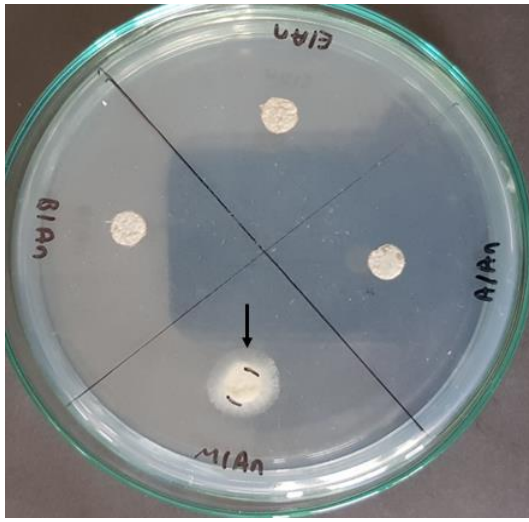
Şekil 4'de görüleceği üzere, *A. niger*'e karşı ITC bileşiklerinin fungus misel gelişimini engelleyen MIC değerlerindeki ekinin fungisidal veya fungistatik özelliklerde olduğu saptanmıştır.

ITC'lerden EITC, AITC ve BITC bileşiklerinin **fungisidal**, MITC bileşiğinin ise **fungistatik** etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 2 ve Çizelge 4).



Şekil 3. Farklı ITC bileşiklerinin fungal etmen *A. niger*'in misel gelişimini engelleme potansiyellerinin *in vitro* koşullarda araştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC içeren petrilerdeki fungus misel gelişimleri görülmektedir

Figure 3. *In vitro* investigation of the potential of different ITC compounds to inhibit mycelial growth of the fungal agent *A. niger*. Fungal mycelial growths are seen in petri dishes containing different concentrations of (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC



Şekil 4. *A. niger*'e karşı minimum engelleme konsantrasyonunda gerçekleşen fungisidal/fungistatik etkinin belirlenmesi. MIC değerlerinin gerçekleştirildiği petrilere alınan misel diskleri yeni PDA besi yerinde aktarıldıklarında sadece MITC'den alınan misel diski (ok) gelişme göstermiştir

Figure 4. Determination of the fungicidal/fungistatic effect against *A. niger* at the minimum inhibition concentration (MIC). When the mycelial discs from the petri dishes in which the MIC values were realized were transferred to the new PDA medium, only the mycelial disc from the MITC (arrow) showed mycelial development

### *Fusarium incarnatum*'a karşı farklı ITC bileşiklerinin *in vitro* antifungal etkilerinin belirlenmesi

*F. incarnatum*'a karşı test edilen ITC bileşiklerinin MIC değerlerine bakıldığında etkili bileşiğinin, 0.06  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozla methyl isothiocyanate (MITC) olduğu, bu bileşiği sırasıyla 0.12, 0.15 ve 0.21  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozları ile benzyl isothiocyanate (BITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC) ve ethyl isothiocyanate (EITC) bileşiklerinin izlediği belirlenmiştir (Çizelge 3, Şekil 5). *A. niger*'e karşı antifungal etkileri araştırılan ITC bileşiklerinin konsantrasyonları arasında farkın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir. Yapılan probit analiz sonucunda ITC bileşiklerinin *F. incarnatum*'un misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC<sub>50</sub>) değerleri, MITC için 0.029  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>, BITC için 0.050  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> ve AITC için 0.064  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> olarak belirlenirken, en yüksek EC<sub>50</sub> değeri EITC için 0.146  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3 ve Çizelge 4).

Çizelge 3. Farklı dozlardaki ITC bileşiklerinin fungal etmen *F. incarnatum*'un misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri  
Table 3. Antifungal effects of different doses of ITC compounds on mycelial growth of the fungal agent *F. incarnatum*

Doz ( $\mu\text{l}$ /petri)	AITC		BITC		EITC		MITC	
	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)	MG (mm)	MGI (%)
0	90.0f	0.0	90.0e	0.0	90.0e	0.0	90.0g	0.0
1	72.3e	19.6	66.0d	26.7	70.7d	21.5	74.0f	17.8
2	64.0d	28.9	40.7c	54.8	63.7c	29.3	64.0e	28.9
3	33.7c	62.6	28.3b	68.5	62.3c	30.7	54.3d	39.6
4	8.3b	90.7	0.0a	100.0*	33.7b	62.6	43.3c	51.9
5	0.0a	100.0*	nt	nt	0.0a	100.0*	24.3b	73.0
6	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0.0a	100.0*
EC <sub>50</sub>	0.064		0.050		0.146		0.029	

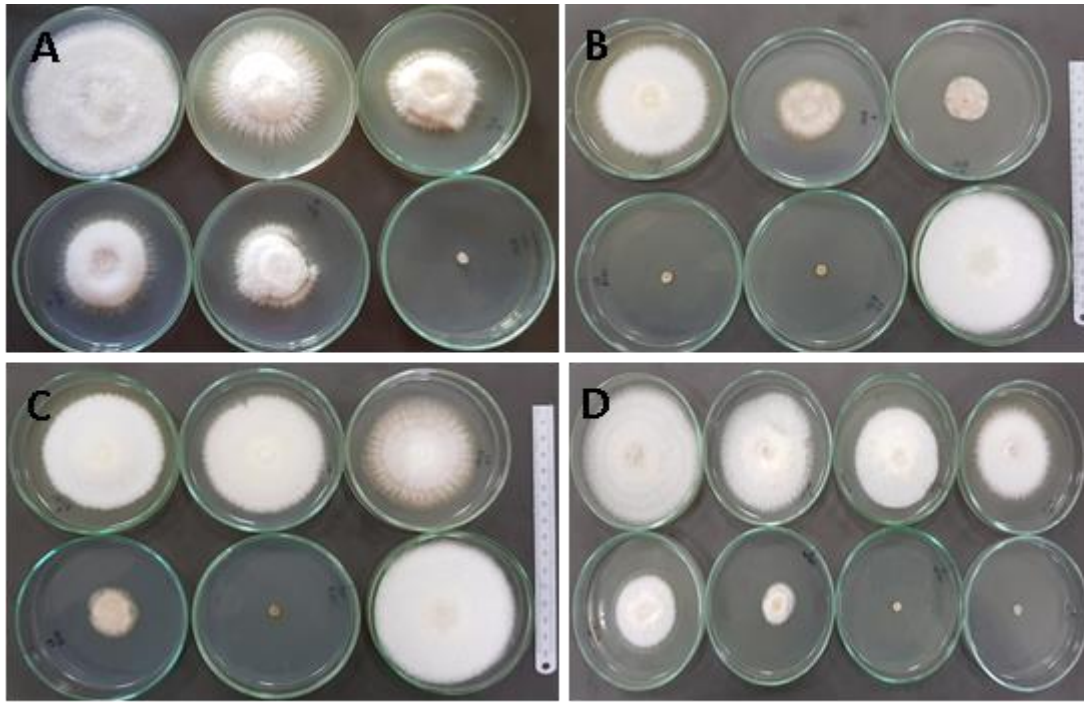
AITC ve BITC Dozları: 0, 0.03, 0.06, 0.09, **0.12, 0.15**, 0.18  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>; EITC Dozları: 0, 0.09, 0.12, 0.15, 0.18, **0.21**, 0.24  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>; MITC Dozları: 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, **0.06**  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>; nt: bu dozda test edilmedi. Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler, uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak Tukey HSD testine göre önemli olduğunu göstermektedir (P<0.05).

“\*” ve “\*\*”: kullanılan bu dozda gösterilen antifungal etkinin fungisidal (\*) veya fungistatik (\*\*) özellikte olduğunu gösterir

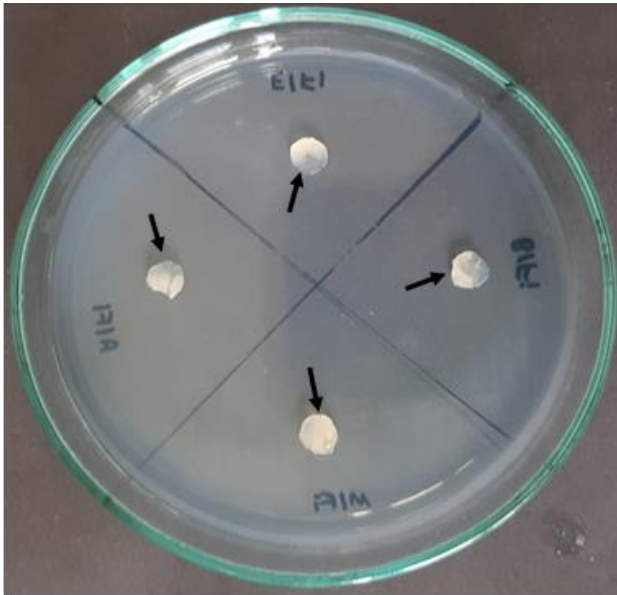
Şekil 6'de görüleceği üzere, *A. niger*'e karşı ITC bileşiklerinin fungus misel gelişimini engelleyen MIC değerlerindeki etkinin fungisidal veya fungistatik özelliklerde olduğu saptanmıştır.

ITC'lerden EITC, AITC ve BITC bileşiklerinin **fungisidal**, MITC bileşiğinin ise **fungistatik** etki gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 2 ve Çizelge 4).





Şekil 5. Farklı ITC bileşiklerinin fungal etmen *F. incarnatum*'un misel gelişimini engelleme potansiyellerinin *in vitro* koşullarda araştırılması. Farklı konsantrasyonlarda (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC içeren petrilerdeki fungus misel gelişimleri görülmektedir  
 Figure 5. *In vitro* investigation of the potential of different ITC compounds to inhibit mycelial growth of the fungal agent *F. incarnatum*. Fungal mycelial growths are seen in petri dishes containing different concentrations of (A) AITC, (B) BITC, (C) EITC, (D) MITC



Şekil 6. *F. incarnatum*'a karşı minimum engelleme konsantrasyonunda gerçekleşen fungisidal/fungistatik etkinin belirlenmesi. MIC değerlerinin gerçekleştiği petrilerden alınan misel disklerin tamamı yeni PDA besi yerinde aktarıldıklarında gelişme göstermemiştir.  
 Figure 6. Determination of the fungicidal/fungistatic effect against *F. incarnatum* at the minimum inhibition concentration (MIC). All of the mycelial discs from the petri dishes in which the MIC values were obtained did not develop when transferred to the new PDA medium.

Denemelerde kullanılan ITC bileşiklerinin test edildikleri *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium incarnatum*'un misel gelişimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar sonucunda elde edilen minimum engelleme konsantrasyonları (MIC) ve fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon değerleri (EC<sub>50</sub>) Çizelge 4'de verilmiştir. ITC bileşikleri, MIC ve EC<sub>50</sub> değerleri açısından değerlendirildiğinde fungal etmenlere karşı en yüksek antifungal etkinlik **MITC bileşiği** tarafından gösterilmiş olup, bu bileşiği sırasıyla **AITC** ve **BITC** bileşikler izlemiştir. Fungal etmenlere karşı en düşük etkinliğin ise **EITC** bileşiğinin sergilediği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre test edilen her iki fungal hastalık etmenine karşı MIC değerinde en güçlü antifungal etkinlik (% 100 engelleme) sırasıyla **MITC** (0.09 µl petri<sup>-1</sup>) ve **EITC** (0.15-0.18 µl petri<sup>-1</sup>) ITC'lerinde saptanmış olup **AITC** ve **BITC** bileşikler 0.12-0.21 µl petri<sup>-1</sup> dozlarında etki göstererek nispeten daha yüksek dozda antifungal etki sergilemişlerdir.

Çizelge 4. Denemelerde kullanılan farklı ITC bileşiklerin fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini engelleyen minimum engelleme konsantrasyonları (MIC) ve probit analizi sonucu belirlenen fungal hastalık etmenlerinin misel gelişimini %50 engelleyen etkili konsantrasyon değerleri (EC<sub>50</sub>)

Table 4. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of different ITC compound ( $\mu\text{l petri}^{-1}$ ) used in the trials to prevent mycelial growth of fungal disease agents and the effective concentration values (EC<sub>50</sub>) of fungal disease agents determined as a result of probit analysis to prevent mycelial growth by 50%.

ITC Bileşikleri (ITC Compounds)	Fungal etmenler, MIC ve EC <sub>50</sub> değerleri ( $\mu\text{l petri}^{-1}$ )					
	A. alternata		A. niger		F. incarnatum	
	MIC	EC <sub>50</sub>	MIC	EC <sub>50</sub>	MIC	EC <sub>50</sub>
AITC	0.21*	0.148	0.12*	0.072	0.15*	0.064
BITC	0.21*	0.149	0.12*	0.068	0.12*	0.050
EITC	0.18**	0.110	0.15*	0.086	0.21*	0.146
MITC	0.09*	0.038	0.09**	0.040	0.06*	0.029

“\*” ve “\*\*”: kullanılan bu dozda gösterilen antifungal etkinin fungisidal (\*) veya fungistatik (\*\*) özellikte olduğunu gösterir

ITClerin antifungal etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada kullanılan *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger* ve *Fusarium incarnatum* türlerin yanısıra bunların bağlı oldukları cinslerde yer alan diğer birçok türün insan ve hayvan sağlığına zararlı güçlü mikotoksin üreten funguslar oldukları daha önce yapılmış birçok çalışmada bildirildiğinden (Chen ve ark., 1992; Rheeder ve ark., 2002; Blumenthal, 2004; Reddy ve ark., 2010) bu türlerin mikotoksin üretme potansiyelleri ayrıca araştırılmamıştır. *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinslerine ait türlerin başlıca mikotoksin üreticisi funguslar oldukları (McKee, 1995; Kabak ve Dobson, 2017), çok sayıda bitkisel üründe özellikle hasat sonrası dönemde çürümelere sebep olan *Aspergillus* türlerinin daha çok Aflatoxin (McKee, 1995; Uylaşer ve ark., 2005), gerek hasat öncesi gerekse de hasat sonrası dönemde bir çok üründe bozulmalara sebep olan ve ayrıca önemli bitki patojenleri de olan *Alternaria* türlerinin ise Alternariol (AOH) ve Alternariol monometil (Yiannikouris ve Jouany, 2002) gibi mikotoksinleri başlıca ürettikleri bildirilmiştir.

Bitkisel üretimde meydana gelen hasat sonrası çürümelere, depolama sürecinde büyük kayıplara ve ürünlerin raf ömrünün kışalmasına neden olan önemli faktörlerden biridir. Daha önce yapılmış çalışmalara bakıldığında ITC bileşiklerinin antimikrobiyal etkinlikleri daha çok insan/hayvan/gıda patojenlerine karşı veya bazı insan hastalıklarına olan etkileri bakımından (özellikle çeşitli kanser hastalıkları) araştırılmıştır.

Bu bileşiklerin farklı bitki patojenlerine olan etkileri son zamanlarda ilgiyle irdelenmesine rağmen bunların özellikle mikotoksin oluşturan hasat sonrası bitki patojenlerine olan etkileri oldukça kısıtlı sayıda çalışmada araştırılmıştır. Yapılan literatür araştırmalarına göre, doğrudan biber meyvelerinde çürümelere sebep olan *A. niger* etmenine karşı ITC bileşiklerinin antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamış olup söz konusu bu etmene karşı ITC bileşiklerinin antifungal etkileri ilk kez bu çalışma ile ortaya koyulmuştur. Biber meyvelerinde sorun olan *Aspergillus* türleri dışında depolanmış mısır, yerfıstığı gibi farklı bitkisel ürünlerde mikotoksin oluşturan farklı *Aspergillus* (*Aspergillus parastictus*, *A. flavus* vb.) ve *Fusarium* (*Fusarium tricinctum*, *Fusarium verticillioides* vb.) türlerine karşı bazı ITC bileşiklerinin antifungal güçlü etkiler sergiledikleri belirtilmiştir (Otoni ve ark., 2014; Okano ve ark., 2015; Quiles ve ark., 2015; Nazareth ve ark., 2016; Tracz ve ark., 2017; Nazareth ve ark., 2018; de Melo Nazareth ve ark., 2020). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar önceden yapılmış çalışmalarla karşılaştırıldığında sonuçların birbirleri ile paralellik gösterdiği söylenebilir. Nitekim çalışmada kullanılan ITC bileşiklerinin tamamı *A. alternata* ve *A. niger*'e karşı doza göre değişmekle beraber güçlü antifungal etkiler sergilemişlerdir. Fungal izolatin türüne göre de değişmekle beraber ITC'lerin büyük çoğunluğunun fungal etmelere karşı MIC değerlerinde büyük oranda fungisidal (fungusu tümüyle öldüren) etkilerinin

olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde ITC'lerin *in vitro* şartlarda gözlemlenen fungisidal etkileri bazı çalışmalarda da bildirilmiştir (Mari ve ark., 1996; Troncoso-Rojas ve ark., 2005).

ITC'lerin biber meyvelerinde sorun *A. alternata* ile mücadeledeki antifungal etkileri ise çok sınırlı çalışmada araştırılmış olup biber meyvesinde sadece bir çalışmaya rastlanmıştır. Troncoso-Rojas ve ark. (2005) tarafından yapılan çalışmada, dolmalık biberde sorun olan *Alternaria alternata* ile mücadelede lahana yapraklarından elde edilen Allyl (AITC), Benzyl (BITC), 2-phenylethyl (PEITC), Phenyl (PITC) ITC'lar ile bunların karışımlarının antifungal etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak AITC'nin 0.04, BITC'nin ise 0.08 mg ml<sup>-1</sup> dozunda fungus misel gelişimini tamamen engellediği bildirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan Allyl (AITC) ve Benzyl (BITC) ITC'lerin *A. alternata*'nın misel gelişimini çok düşük konsantrasyonlarda (0.21 µl petri<sup>-1</sup>) tamamen engellediği belirlenmiştir. ITC bileşiklerinin fungusların misel gelişimini tümüyle engelledikleri petrilerdeki misel gelişimleri ışık mikroskopunda incelendiğinde bunlarda bazı yapısal aksaklıkların meydana geldiği gözlenmiştir (data verilmemiştir). Misel gelişiminin %100 engellendiği bu konsantrasyonlardaki fungusların konidi ve hiflerinde yapılan mikroskopik incelemeler sonucu hiflerde deformasyonlar, hif çapının incilmesi ve parçalanması, hiflerde sitoplazmik pıhtılaşmalar ile konidilerde deformasyonlar gibi bazı morfolojik değişimlerin meydana geldiği görülmüştür. Sonuçların, Kara ve Soylu (2020)'nin bulmuş oldukları sonuçlar ile benzerlikler gösterdiği görülmektedir. Fungus misel yapısında bozulmalara sebep olunan etkinin daha önce farklı çalışmalarda bildirilmiş olduğu haliyle mikroorganizmanın hücre zarına zarar verilmesi, dolayısıyla hücre duvarı sentezini düzenleyen enzimatik reaksiyonların olumsuz etkilenebileceğinden veya zararlanma sonrası hücrelerde gerçekleşen metabolit sızıntılardan kaynaklı olabileceği düşünülebilir (Kojima ve Oawa, 1971; Banks ve ark., 1986; Lin ve ark., 2000).

## Sonuçlar

Sonuç olarak, bitkilerden elde edilen doğal bileşikler olan isothiocyanate'ların, biber meyvelerinde çürümelere sebep olan hasat öncesi ve sonrası fungal etmenlerden *A. niger* ve *A.alternata*'ya karşı *in vitro* koşullarda antifungal etkiler gösterdikleri belirlenmiştir. Özellikle methyl isothiocyanate (MITC) çalışmadaki funguslara karşı en etkili antifungal etkiyi sergilerken Allyl (AITC) ve Benzyl (BITC) isothiocyanate'lar nispeten daha yüksek dozlarda antifungal etkiler göstermişlerdir. ITC'lerin uçucu özellikleri göz önüne alındığında bunlar fumigant olarak tek başlarına veya karışım halinde preparatları yapılarak özellikle depolanmış ürünlerde sorun olan fungal etmenlere karşı kolay bir şekilde uygulanabilirler. Bununla beraber farklı ITC'lerin fungal patojenlere karşı *in vitro* ve *in vivo* etkilerinin araştırılması ve pratikte kullanılmalarına imkân sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi önem arz edecektir.

## Ekler

Bu çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş olan **17YL013** nolu proje kapsamında yapılmıştır. Bu çalışma Mehmet ATAY'ın Yüksek Lisans Tezinden üretilmiştir.

**Çıkar Çatışması:** Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

**Yazar Katkısı:** Arazi ve laboratuvar çalışmaları Mehmet ATAY ve Soner SOYLU tarafından yürütülmüştür. Makalenin yazımı Soner SOYLU ve Mehmet ATAY katkısı ile gerçekleştirilmiş olup, makalenin son hali yazarlar tarafından okunarak onaylanmıştır.

## Kaynaklar

Anonymous (2022). Crops and livestock products. Statistical data of FAO (FAOSTAT). Retrieved from: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (Erişim Tarihi 25.02.2022).

- Atay, M., Kara, M., Uysal, A., Soylu, S., Kurt, Ş., & Soylu, E. M. (2020). *In vitro* antifungal activities of endophytic bacterial isolates against postharvest heart rot disease agent *Alternaria alternata* in pomegranate fruits. *Acta Horticulturae*, 1289, 309-314.
- Banks, J.G., Board, R. G., & Sparks, N. H. C. (1986). Natural antimicrobial system and their potential in food preservation of the future. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 8, 103-107.
- Blumenthal, C. Z. (2004). Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 39(2): 214-228.
- Chen, J., Mirocha, C. J., Xie, W., Hogge, L., & Olson, D. (1992). Production of the mycotoxin fumonisin B1 by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(12), 3928-3931.
- Clifford, B. C., & Lester, E. (1988) Control of plant diseases: Costs and benefits. Oxford, UK, Blackwell.
- de Melo Nazareth, T., Alonso-Garrido, M., Stanciu, O., Mañes, J., Manyes, L., & Meca, G. (2020). Effect of allyl isothiocyanate on transcriptional profile, aflatoxin synthesis and *Aspergillus flavus* growth. *Food Research International*, 128, 108786.
- Delaquis, P. J., & Mazza, G. (1995). Antimicrobial properties of isothiocyanates in food preservation. *Food Technology*, 49, 73–84.
- Dufour, V., Stahl, M., & Baysse, C. (2015). The antibacterial properties of isothiocyanates. *Microbiology*, 161(2), 229-243.
- Dugan, F.M., 2006. The Identification of Fungi, An Illustrated Introduction With Keys Glossary and Guide to Literature. APS. Press, St. Paul. Minnesota, USA. pp. 176.
- Duman, A. D. (2010). Storage of red pepper under hermetically sealed or vacuum conditions for preservation of its quality and prevention of mycotoxin occurrence. *Journal of Stored Product Research*, 46, 155–160.
- Dwivedy, A. K., Kumar, M., Upadhyay, N., Prakash, B., & Dubey, N.K. (2016). Plant essential oils against food borne fungi and mycotoxins. *Current Opinion in Food Science*, 11, 16–21.
- Ham, H., Kim, S., Kim, M-H., Lee, S., Hong, S.K., Ryu, J-G., & Lee, T. (2016). Mycobiota of ground red pepper and their aflatoxigenic potential. *Journal of Microbiology*, 54, 832–837.
- Hontanaya, C., Meca, G., Luciano, F.B., Manes, J., & Font, G. (2015). Inhibition of aflatoxin B1, B2, G1 and G2 production by *Aspergillus parasiticus* in nuts using yellow and oriental mustard flours. *Food Control*, 47, 154-160.
- Howard, L. R., Smith, R. T., Wagner, A. B., Villalon, B., & Burns, E. E. (1994). Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars (*Capsicum annuum*) and processed jalapenos. *Journal of Food Science*, 59, 362-365.
- Hussein, H. S., & Brasel, J. M. (2001). Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*, 167(2), 101-134.
- Kabak, B., & Dobson, A. D. W. (2017). Mycotoxins in spices and herbs-An update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, 18-34.
- Kara, M., & Soylu, E. M. (2020). Assessment of glucosinolate-derived isothiocyanates as potential natural antifungal compounds against citrus sour rot disease agent *Geotrichum citri-aurantii*. *Journal of Phytopathology*, 168(5), 279-289.
- Kara, M., Türkmen, M., & Soylu, S. (2022). Rezene ve defne uçucu yağ karışımlarının kimyasal bileşenlerinin servi sürgün uç yanıklığı hastalık etmeni *Pestalotiopsis funerea*'ya karşı antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25 (1), 113-126.
- Kojima, M., & Oawa, K. (1971). Studies on the effect of isothiocyanates and their analogues on microorganisms. (I) Effects of isothiocyanates on the oxygen uptake of yeasts. *Journal of Fermentation Technology*, 49, 740–746.
- Kurt, Ş., Güneş U., & Soylu, E.M. (2011). *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of synthetic pure isothiocyanates against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Pest Management Science*, 67, 869-875.
- Lin, C., Preston, J., & Wei, C. (2000). Antibacterial mechanism of allyl-isothiocyanate. *Journal of Food Protection*, 63, 727–734.
- Manyes, L., Luciano, F. B., Manes, J., & Meca, G. (2015). *In vitro* antifungal activity of allyl isothiocyanate (AITC) against *Aspergillus parasiticus* and *Penicillium expansum* and evaluation of the AITC estimated daily intake. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 293–299.
- Mari, M., Leoni, O., Bernardi, R., Neri, F., & Palmieri, S. (2008). Control of brown rot in stone fruits by synthetic and glucosinolates-derived isothiocyanates. *Postharvest Biology and Technology*, 47, 61–67.
- Mari, M., Lori, R., Leoni, O., & Marchi, A. (1996) Bioassays of glucosinolates-derived isothiocyanate against postharvest pear pathogens. *Plant Pathology*, 45:753–760.
- McKee, L. H. (1995). Microbial contamination of spices and herbs, a review. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 1-11.
- Nazareth, T.M., Bordin, K., Manyes, L., Meca, G., Manes, J., & Luciano, F.B., (2016). Gaseous allyl isothiocyanate to inhibit the production of aflatoxins, beauvericin, and enniatins by *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium poae* in wheat flour. *Food Control*, 62, 317-321.
- Nazareth, T.M., Corrêa, J.A.F., Pinto, A.C.S.M., Palma, J.B., Meca, G., Bordin, K. & Luciano, F.B., (2018). Evaluation of gaseous allyl isothiocyanate against the growth of mycotoxigenic fungi and mycotoxin production in corn stored for 6 months. *Journal Science Food Agriculture*, 98, 5235-5241.
- Okano, K., Ose, A., Takai, M., Kaneko, M., Nishioka, C., Ohzu, Y., & Ichinoe, M. (2015). Inhibition of aflatoxin production and fungal growth on stored corn by allyl isothiocyanate vapor. *Shokuhin eiseigaku zasshi. Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 56(1), 1-7.
- Öksüztepe, G., & Erkan, S., (2016). Mycotoxins and their importance in terms of public health. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5, 190-195.

- Otoni, B. C. G., Soares, N. F. F., da Silva, W. A., Medeiros, E. A. A. & Junior, J. C. B. (2014). Use of allyl isothiocyanate-containing sachets to reduce *Aspergillus flavus* sporulation in peanuts. *Packaging Technology and Science*, 27, 549–558.
- Prakash, B., Shukla, R., Singh, P., Mishra, P. K., Dubey, N. K., & Kharwar, R. N. (2011). Efficacy of chemically characterized *Ocimum gratissimum* L. essential oil as an antioxidant and a safe plant based antimicrobial against fungal and aflatoxin B1 contamination of spices. *Food Research International*, 44(1), 385-390.
- Quiles, J. M., Manyes, L., Luciano, F., Manes, J., & Meca, G. (2015). Influence of the antimicrobial compound allyl isothiocyanate against the *Aspergillus parasiticus* growth and its aflatoxins production in pizza crust. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 222-228.
- Reddy, K. R. N., Salleh, B., Saad, B., Abbas, H. K, Abel, C. A., & Shier, W.T. (2010). An overview of mycotoxin contamination in foods and its implications for human health. *Toxin Reviews*, 29, 3-26.
- Rheeder, J. P., Marasas, W. F., & Vismer, H. F. (2002). Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5), 2101-2105.
- Şahin, B., Soylu, S., Kara, M., Türkmen, M., Aydın, R., & Çetin, H. (2021). Superior antibacterial activity against seed-borne plant bacterial disease agents and enhanced physical properties of novel green synthesized nanostructured ZnO using *Thymbra spicata* plant extract. *Ceramics International*, 47, 341-350.
- Shukla, R., Kumar, A., Singh, P., & Dubey, N. K. (2009). Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. *International Journal of Food Microbiology*, 135(2), 165-170.
- Simonne, A. H., Simonne, E. H., Eitenmiller, R. R., Mills, H. A., & Green, N. R. (1997). Ascorbic acid and provitamin a contents in unusually colored bell peppers (*Capsicum annum*L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 299-311.
- Smith, J. E. (2001). Mycotoxins, In, Food Chemical Safety, Watson, D.H., (Ed.), CRC Press, pp.234-255.
- Soliman, K. M., & Badeaa, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1669–1675.
- Soylu, E.M., Kurt, Ş., & Soylu, S. (2010). *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 183-189.
- Soylu, E.M., Soylu, S., Kara, M., & Kurt, Ş. (2020). Sebzelerde sorun olan önemli bitki fungal hastalık etmenlerine karşı vermikomposttan izole edilen mikrobiyomların *in vitro* antagonistik etkilerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1), 7-18.
- Soylu, S., Kara, M., Soylu, E. M., Uysal, A., & Kurt, Ş. (2022). *Geotrichum citri-aurantii*'nin sebep olduğu turunçgil ekşi çürüklük hastalığının biyolojik mücadelesinde endofit bakterilerin biyokontrol potansiyellerinin belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1), 177-191.
- Tracz, B. L., Bordin, K., de Melo Nazareth, T., Costa, L. B., de Macedo, R. E. F., Meca, G., & Luciano, F. B. (2017). Assessment of allyl isothiocyanate as a fumigant to avoid mycotoxin production during corn storage. *LWT*, 75, 692-696.
- Tripathi, P., & Dubey, N. K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest biology and Technology*, 32(3), 235-245.
- Troncoso-Rojas, R., Corral-Acosta, Y., Sánchez-Estrada, A., García-Estrada, R., Aguilar-Valenzuela, A., Ojeda-Contreras, J., & Tiznado-Hernández, M. E. (2009). Postharvest treatment of isothiocyanates to control *Alternaria rot* in netted melon. *Phytoparasitica*, 37(5), 445.
- Troncoso-Rojas, R., Espinoza, C., Sánchez-Estrada, A., Tiznado, M.E., & García, H.S., (2005). Analysis of the isothiocyanates present in cabbage leaves extract and their potential application to control *Alternaria rot* in bell peppers. *Food Res. Intern.* 38, 701–708.
- Türkmen, M., Kara, M., Maral, H., & Soylu, S. (2022). Determination of chemical component of essential oil of *Origanum dubium* plants grown at different altitudes and antifungal activity against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e15787
- Ugolini, L., Martini, C., Lazzeri, L., D'Avino, L., & Mari, M. (2014). Control of postharvest grey mould (*Botrytis cinerea* Per.: Fr.) on strawberries by glucosinolate-derived allyl-isothiocyanate treatments. *Postharvest Biology and Technology*, 90, 34–39.
- Uylaşer, V., Karaman, B., & Kazancı, Y.T. (2005). Mikotoksinler ve insan sağlığına etkileri. *Hasad*, 21, 43-48.
- Weidenbörner, M. (2014). Mycotoxins in Foodstuffs. Springer Science & Business Media, 739 pp.
- Wien, H. C. (1997). The physiology of vegetable crops (No. 581.1 635). CAB International.
- Wu, H., Zhang, G.A., Zeng, S.Y., & Lin, K.C. (2011). Antifungal vapour-phase activity of a combination of allyl-isothiocyanate and ethyl isothiocyanates against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* on apples. *Journal of Phytopathology*, 159, 450–455.
- Yiannikouris, A. & Jouany, J. P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals, A review. *Animal Research*, 51, 81-99.