





Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi

Araştırma Makalesi

Seçilmiş Bazı Bitki Ekstraktlarının *Penicillium expansum*'un Misel Büyümesi Üzerine *in vivo* ve *in vitro* Etkinliği

 Seda BALKAN^{a,*},  Bilal BALKAN^a

^aMoleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kırklareli Üniversitesi, Kırklareli, TÜRKİYE

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: balkan.seda@klu.edu.tr

DOI: 10.29130/dubited.1111469

Öz

Hasat sonrası elmalarda oldukça yaygın görülen *Penicillium expansum*'un neden olduğu mavi küf dünya çapında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu çalışmada Lamiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Papaveraceae familyalarına ait 14 bitki türünün gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından elde edilen bitki tozları ve sulu ekstraktlar *Penicillium expansum*'un misel büyümesinin kontrolü için *in vivo* ve *in vitro* etkinlikleri açısından değerlendirildi. *in vitro* sonuçlara göre *Penicillium expansum*'un misel büyümesini Lamiaceae familyasına ait *Origanum vulgare* ve *Thymus longicaulis* sırası ile %100 ve %87,11'lik oranlarında inhibe etti. En düşük MİK değerini *O. vulgare* sulu ekstraktı gösterdi (250 µg/mL). *O. vulgare* sulu ekstraktı (32 mg/mL) elmada yapay olarak oluşturulan mavi küf enfeksiyonunu %69,21 oranında engelledi. SEM analizinde *Penicillium expansum*'un hifal yapısı üzerine *O. vulgare* ve *T. longicaulis*'in çökertme, yassılaştırma ve kırışık hücre yüzeyli hücreler etkileri gözlemlendi. Mavi küf enfeksiyonlarını kontrol edebilmek için *O. vulgare* sulu ekstraktının doğal bir antifungal madde olarak değerlendirilebileceğini önerebiliriz.

Anahtar Kelimeler: *Penicillium expansum*, Antifungal aktivite, Bitki ekstraktı

in vivo and *in vitro* Efficacy of Selected Some Plant Extracts on Mycelial Growth of *Penicillium expansum*

ABSTRACT

Blue mold caused by *Penicillium expansum*, which is very common in post-harvest apples, causes significant economic losses worldwide. In this study, plant powders and aqueous extracts obtained from the stem, leaf and flower parts of 14 plant species belonging to the Lamiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Papaveraceae families were evaluated for their *in vivo* and *in vitro* activities for the control of mycelial growth of *Penicillium expansum*. According to *in vitro* results, *Penicillium expansum* inhibited mycelial growth of Lamiaceae family *Origanum vulgare* and *Thymus longicaulis* by 100% and 87,11%, respectively. *O. vulgare* aqueous extract showed the lowest MIC value (250 µg/mL). At 32 mg/mL, *O. vulgare* aqueous extract prevented artificially induced blue mold infection in apples by 69,21%. In SEM analysis, collapsing, flattening and rough cells effects of *O. vulgare* and *T. longicaulis* on hyphal structure of *Penicillium expansum* were observed. We can suggest that the aqueous extract of *O. vulgare* can be evaluated as a natural antifungal agent in order to control blue mold infections.

Keywords: *Penicillium expansum*, Antifungal activity, Plant extract

I. GİRİŞ

Elma (*Malus domestica* Borkh.) ülkemizdeki önemli tarım ürünlerinden biridir. 2020 yılında dünyadaki meyve üretiminin yaklaşık %9,7'sini oluşturmuştur. Dünyadaki elma üretiminin 2021/22 sezonunda 81,8 milyon ton olacağı öngörülmektedir. 2020 verilerine göre Türkiye'de elma üretimi toplam 4,3 milyon tondur. Isparta ili üretimde ilk sırayı almaktadır. 2020/21 sezonunda dünya sıralamasında Türkiye, AB ülkelerinden sonra elma üretiminde 3. sırada, ihracatta ise 10. sırada bulunmaktadır [1].

Hasat, nakliye ve/veya işleme sırasında sürekli oluşan yaralar nedeni ile depolama sırasında patojenik fungusların sebze ve meyveleri enfekte ederek mikrobiyal çürümelere oluşturması gıda endüstrisinin temel sorunudur [2,3]. Fungusların gıdalarda oluşturdukları enfeksiyonlar nedeni ile gıdaların besin değeri düşmekte ve tüketim için uygun olmayan hale gelmektedirler. Bazı funguslar ise mikotoksinler üreterek depolama sırasında gıdalarda önemli hasara neden olmaktadır [4].

Penicillium expansum Link. (1809) depolanmış ürünlerde %50'ye varan kayıplara neden olan ve meyve kabuğunun yaralanması ile ürün içine giren bir yara patojenidir [5]. Bu patojen, elmalarda oluşturduğu mavi küf hastalığı nedeni ile çürüklük kayıpları yanında, kanserojenik etkiye sahip patulin mikotoksinini de üretmektedir [6]. Depolama ve nakliye sırasında gıda kayıplarının önlenmesi için çeşitli sentetik fungusitler geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Ülkemizde hasat sonrası depolarda elmada *Penicillium expansum*'un meydana getirebileceği enfeksiyonları önlemek için kullanılan ruhsatlı bir fungusit bulunmamaktadır. Boscalid 25,2 g/kg + Pyraclostrobin 12,8 g/kg (Bellis® WG, BASF) hasat öncesi ruhsatlı olarak bu hastalığa karşı kullanılmaktadır [7]. Fakat bu sentetik fungusitler insanlar ve çevre için istenilmeyen olumsuz etkilere neden olmaktadır. Tüketiciler enfeksiyonlara karşı sentetik fungusitler ile korunmuş meyveleri daha az tercih ettiğinden dolayı alternatif yollara olan talep hızla artış göstermektedir. Bitki ekstraktları bu alternatif yollardan biridir. Birçok bitki mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal ve sitotoksik etkiler sergileyen fitokimyasallar içerdikleri için doğal antimikrobiyal potansiyele sahiptir. Toksik olmamaları ve çevre ve doğa dostu olmaları nedeni ile tarım ürünlerine ve gıdalara uygulamada sentetik fungusitler yerine alternatif potansiyelleri söz konusudur [8,9].

Bu çalışmada Lamiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Papaveraceae familyalarına ait 14 bitki türü *Penicillium expansum*'un misel büyümesi üzerine *in vitro* ve *in vivo* antifungal etkinliği açısından ilk kez değerlendirilmiştir.

II. MATERYAL VE YÖNTEM

A. MİKROORGANİZMA

Penicillium expansum Trakya Üniversitesi Arda Meslek Yüksekokulu küf koleksiyonundan temin edildi. Saf kültür, canlılığı devam ettirilmek üzere yatkın agarlı Patates Dekstroz Agar (PDA) besiyerlerinde +4°C'de muhafaza edilerek ayda bir pasajlandı.

B. BİTKİ EKSTRAKTLARININ HAZIRLANMASI

Çalışma materyali olarak kullanılan bitki örnekleri Kırklareli'nin (Türkiye) farklı lokasyonlarından toplandı. Örneklerin Merkez, Dereköy çıkışı, Yörükbayır-Armağan arası, Armağan köyü-baraj civarı tamamı Dr. Hüseyin ERSOY tarafından teşhis edilmiş ve Trakya Üniversitesi, Fen Fakültesi herbaryumunda saklanmaktadır. Lamiaceae, Asteraceae, Caprifoliaceae, Papaveraceae familyalarına ait 14 bitki türüne ait örneklerin gövde, yaprak ve çiçek kısımları direk güneş ışığı almayacak bir alanda gölgede kurutuldu, öğütülerek toz haline getirildi ve kullanıma kadar +4°C'de muhafaza edildi. 10 gr bitki tozu 100 mL kaynayan distile suda 10 dk. demlenerek ekstrakte edildi. Filtre edilen sulu ekstraktlar

liyofilize edildi ve kullanıma kadar -20°C'de saklandı. Deneylerde kullanılan sulu bitki ekstraktlarının çeşitli konsantrasyonları ekstraktların uygun ağırlığının distile suda çözülmesi ile hazırlandı [10].

C. BİTKİ TOZLARININ *PENICILLIUM EXPANSUM*'UN MİSEL BÜYÜMESİ ÜZERİNE *in vitro* ETKİSİ

10 gr bitki tozu 40°C'de eritilmiş 100 mL PDA'ya eklendi. Oluşan süspansiyon 10 dk. karıştırılarak 121°C'de 15 dk. otoklavlandı. Daha sonra steril 4 katlı gazlı bezden süzülerek petri plaklarına döküldü [2]. Petri plakları PDA besiyerinde aktif olarak büyüyen bir haftalık kültürün aktif büyüme ucundan steril mantar delici ile alınan 7 mm çapındaki küf diskleri ile aşılandı. 25°C'de 5 gün inkübe edildi. Misel büyüme inhibisyonu (MBİ) = $[(\text{KBMÇ}-\text{BTBMÇ})/\text{KMBÇ}] \times 100$ formülünden hesaplandı (KBMÇ; kontrol besiyeri misel çapını, BTBMÇ; bitki tozlu besiyerinin misel çapını ifade etmektedir [11]. Tüm deneyler 3 kez tekrarlandı ve sonuçların ortalaması standart sapmalı olarak belirtildi. Antifungal aktivitelerine göre %80 ve üzeri MBİ gösteren bitkilerin ekstraktları ile diğer çalışmalara devam edildi.

D. BİTKİ EKSTRAKTLARININ MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ (MİK) BELİRLENMESİ

Penicillium expansum küfüne (10^4 CFU/mL) karşı sulu bitki ekstraktının antifungal aktivitesini belirlemek için mikrodilüsyon testleri Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) prosedürüne göre belirlendi [12]. MİK değerleri morfolinopropansülfonik (MOPS) ile pH 7,0'ye tamponlanmış RPMI-1640 (Sigma) besiyerinde 96 kuyucuklu plaklarda gerçekleştirildi. Plaklar 5 gün süresince 25°C'de inkübe edildi. MİK değeri görsel olarak, inkübasyondan sonra fungal büyümenin olmadığı en düşük konsantrasyon şeklinde belirlendi.

E. SULU EKSTRAKTLARIN HİFAL MORFOLOJİ ÜZERİNE ETKİSİNİN TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU İLE BELİRLENMESİ

7 günlük kültürden hazırlanan spor süspansiyonundan (10^4 spor/mL) PDA içeren petri plaklarının merkezine 10 µL damlatıldı ve 2 gün 25°C'de inkübe edilerek misel büyümesi sağlandı. Daha sonra bitki ekstraktlarının 4 kat minimum inhibitör konsantrasyonları (4MİK) petri plaklarının üzerini tamamen kapatacak şekilde damlatıldı. 3 gün 25°C'de inkübe edilen fungal kültürlerden mantar delici ile yarıçapı 1 cm'lik misel diskler çıkarıldı. SEM analizi için bu misel diskler oda sıcaklığında 2 saat 0.1 M fosfat tamponu (pH 7,2) içinde hazırlanmış %2,5'lik gluteraldehit ile fiske edildi. Fiksasyondan sonra örnekler her bir seri 30 ar dakikalık sürelerde dereceli olarak etanol serilerinden (% 70, 80, 90 ve % 100) geçirilerek dehidrasyona uğratıldı [11]. Örneklerin 5Kv voltajda SEM Quanta 400 kullanılarak dijital görüntüleri elde edildi.

F. ELMALARDA YAPAY OLARAK OLUŞTURULAN MAVİ KÜF ÇÜRÜMESİNE KARŞI SULU BİTKİ EKSTRAKTLARININ ETKİSİ

Deneyde kullanılan elmalar distile su ile yıkandı, % 0,1 hipoklorit ile dezenfekte edildi ve steril suda üç defa durulandı. Yaralar, steril mantar delici kullanılarak 2 mm derinliğinde 3 mm genişliğinde yapıldı. Yaralar 4, 8, 16 ve 32 mg/mL konsantrasyonlarda sulu bitki ekstraktının 30 µL'si ile kontroller ise aynı miktar steril distile su ile muamele edildi. Oda sıcaklığında 2 saat inkübasyondan sonra her bir yara küf süspansiyonunun (10^4 spor/mL) 20 µL ile aşılandı ve 7 gün 20°C'de inkübe edildi. Her bir tedavi 3 tekrarı içerdi.

Hastalığın şiddeti aşağıdaki formüle göre hesaplandı [10,13].

$$\text{Hastalığın şiddeti (\%)} = \frac{\text{Tedavili ortalama lezyon yarıçapı}}{\text{Kontrolün ortalama lezyon yarıçapı}} \times 100$$

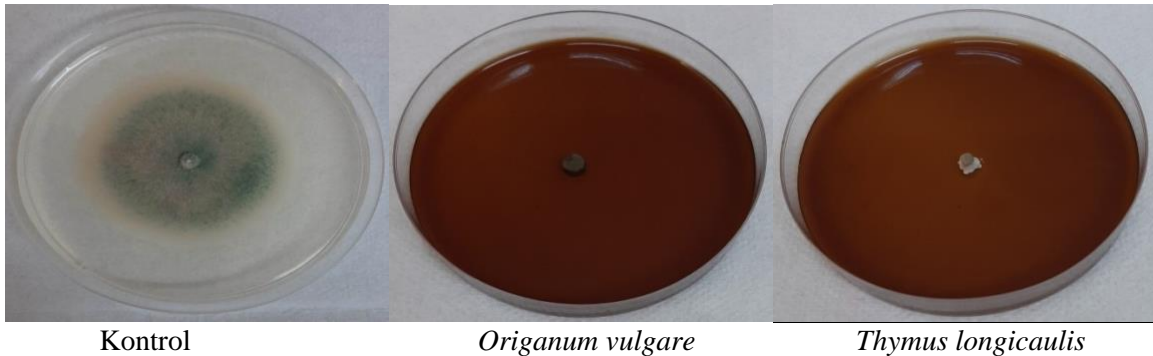
III. BULGULAR VE TARTIŞMA

A. *PENICILLIUM EXPANSUM*'UN MİSEL BÜYÜMESİ ÜZERİNE BİTKİ TOZLARININ *in vitro* ETKİSİ

Sentetik kimyasalların olumsuz etkileri yüzünden yeni antifungal ürünlere ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde bitki ekstraktı içeren biyolojik kontrol ajanları büyük popülariteye sahiptir. Yapılan çalışmalarda bitkilerin antifungal biyoaktif moleküller olarak oldukça etkili oldukları vurgulanmaktadır [9,14,15,16]. Bu çalışmada bazı bitki türlerinin *Penicillium expansum*'a karşı antifungal aktiviteleri değerlendirildi. *in vitro* sonuçlarda bitkilerin tozuna (%10 v/w) *Penicillium expansum*'un yanıtı ya misel büyümesinin artması ya da inhibisyonu şeklindedir. Test edilen 14 bitki türünden 11'ünün küfün misel büyümesini *in vitro* inhibe ettiği, 3 bitki türünün ise misel büyümeyi arttırdığı belirlendi (Tablo 1). Bitki tozlarının küfün misel büyümesini %10,96-100 arasında değişen oranlarda inhibe ettiği tespit edildi. Bu bitkiler arasında Lamiaceae familyasına ait *Origanum vulgare*, *Penicillium expansum*'un misel büyümesini %100 inhibe etti (Şekil 1). Aynı familyaya ait *Thymus longicaulis* tozları elmalarda mavi küf çürümesine neden olan ajanın misel büyümesi üzerine %80'in üzerinde inhibitör etki gösterdi. Bu çalışmada *Penicillium expansum*' un misel büyümesi üzerine % 80'in üzerinde inhibisyon etkisi gösteren bitki örnekleri ile sonraki çalışmalara devam edildi.

Bitkilerin tanenler, terpenoidler, alkaloidler, flavonoidler ve antimikrobiyal aktivitelere sahip peptitler gibi fitokimyasallar açısından zengin aktif bileşenlere sahip olduğu, bitki ekstraktlarında bulunan bu bileşenlerin küfün gelişimini inhibe ettiği bildirilmiştir [17]. Bu ve benzer çalışmalarda da belirtildiği gibi [2,10,13] çalışmamızda misel büyüme inhibisyonu gösteren bitkilerin potansiyel antifungal aktiviteye sahip olduğunu söyleyebiliriz. Daha önceki yapılan çalışmalarda, *T. longicaulis*'in uçucu yağının antimikrobiyal [18] ve *O.vulgare*'nin uçucu yağının antifungal [19,20] ve antibakteriyal [20] aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir.

Gwa vd. (2018) tarafından *in vitro* *Penicillium expansum*'un misel büyümesini *Piper nigrum* ekstraktlarının 30 g/L, 60 g/L ve 90 g/L konsantrasyonlarında sırasıyla %60,38, %71,32 ve %76,29 oranında inhibe ettiğini; bunu sırasıyla 30 g/L, 60 g/L ve 90 g/L'de ortalama %57,37, %63,85 ve %72,06 büyüme inhibisyonu ile *Zingiber officinale*'nin izlediği rapor edilmiştir. En az inhibe eden bitki ekstraktının %43,52, %47,91 ve %63,24 ortalama büyüme inhibisyonu ile 30 g/L, 60 g/L 90 g/L konsantrasyonlarında *Carica papaya* ait olduğunu bildirmişlerdir [21]. Ikeura vd. (2011) *Allium sativum*'un kaba ekstraktlarının *Penicillium expansum* misel büyümesi üzerine oldukça etkili olduğunu tespit etmişlerdir [22]. *Biarum carduchorum* metanol ekstraktlarının 2000 µg/mL konsantrasyonda *Penicillium expansum*'un büyümesini inhibe ettiği bildirilmiştir [17].



Şekil 1. Petri plaklarında *Penicillium expansum*'un misel büyümesi üzerine bazı bitki tozlarının (%10 v/w) *in vitro* etkisinin görüntüleri. İnkübasyon süresi 7 gün, inkübasyon sıcaklığı 25°C

Tablo 1. *Penicillium expansum*'un misel büyümesine seçilmiş bitki tozlarının (%10 v/w) *in vitro* etkisi

Familya	Tür İsmi	Ortalama Zon çapı	İnhibisyon (%)
Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i> L. hirtum (Link) letsw	0±0	100
Lamiaceae	<i>Thymus longicaulis</i> C. Presl longicaulis	7,11±1,36	87,11
Lamiaceae	<i>Salvia verticillate</i> L.	15,63±1,90	71,38
Lamiaceae	<i>Melissa officinalis</i> L.	21,63±3,57	60,39
Lamiaceae	<i>Sideritis montana</i> L.	21,74±0,35	60,19
Asteraceae	<i>Eupatorium cannabinum</i> L.	26,23±3,08	51,96
Asteraceae	<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	26,45±0,95	51,56
Lamiaceae	<i>Clinopodium vulgare</i> L. vulgare	28,33±1,56	48,12
Asteraceae	<i>Tanacetum parthenium</i> L. Schultz. Bip.	45,10±4,20	14,22
Asteraceae	<i>Lactuca serriola</i> L.	48,56±1,12	11,07
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	48,62±2,65	10,96
Caprifoliaceae	<i>Sambucus ebulus</i> L.	67,05±0,92	22,80
Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> L.	70,15±5,29	28,48
Asteraceae	<i>Artemisia absinthium</i> L.	76,33±4,04	39,79
Kontrol		54,60±0,71	

B. SULU BİTKİ EKSTRAKTLARININ MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYONLARININ (MİK) BELİRLENMESİ

Test edilen bitki ekstraktlarının MİK değerleri Tablo 2’de verilmiştir. *Penicillium expansum*’a karşı en düşük MİK değerine sahip bitki ekstraktı *O. vulgare* (250 µg/mL) dir. *T. longicaulis* ekstraktının MİK değeri *O. vulgare* ekstraktı ile karşılaştırıldığında daha yüksekti (500 µg/mL). Bu sonuçlar *O. vulgare* sulu ekstraktlarının *Penicillium expansum*’a karşı daha fazla antifungal ajana sahip olabileceğini göstermektedir.

Biarum carduchorum sulu ve metanol ekstraktlarının *Penicillium expansum* için MİK değerlerinin sırası ile 32 ve 16 mg/mL olduğu rapor edilmiştir [17]. Bu değerler çalışmamızda tespit ettiğimiz MİK değerlerinden oldukça yüksektir.

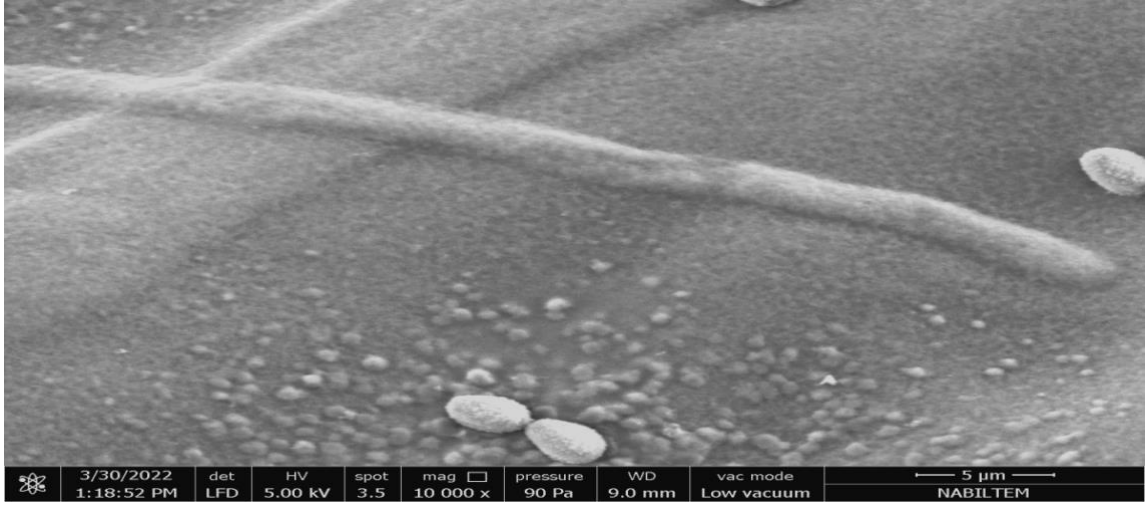
Tablo 2. *Penicillium expansum*’a karşı bazı sulu bitki ekstraktlarının Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MİK), inkübasyon süresi 5 gün, inkübasyon sıcaklığı 25 °C

Bitki ismi	MİK (µg/mL)
<i>Origanum vulgare</i>	250
<i>Thymus longicaulis</i>	500

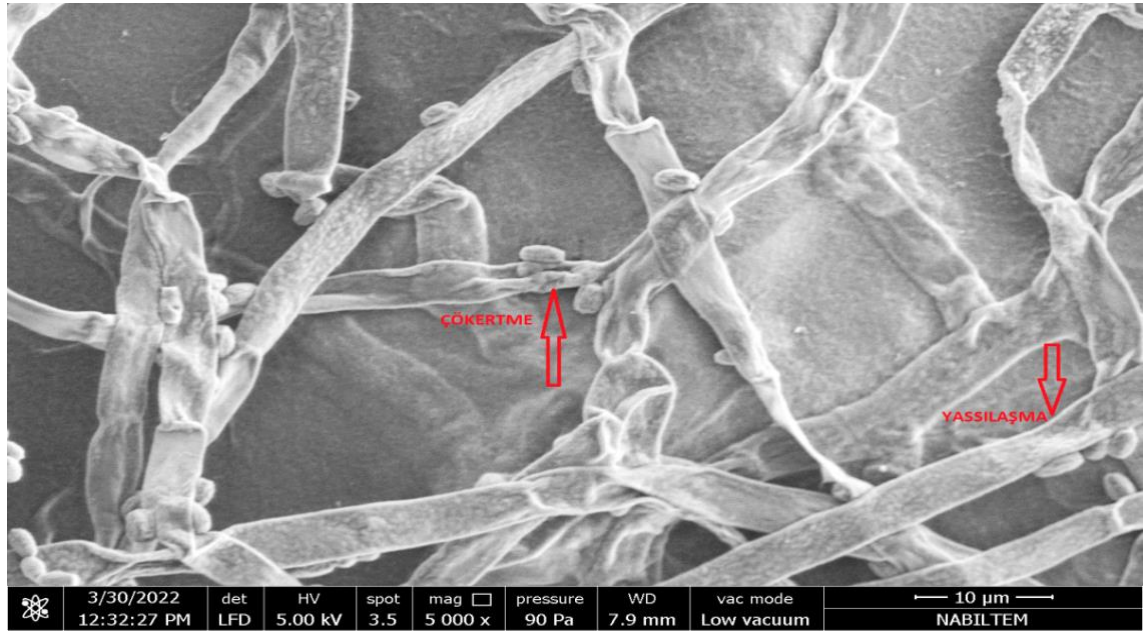
C. HİFAL MORFOLOJİ ÜZERİNE SULU EKSTRAKTLARIN ETKİSİ

Sağlıklı ve dejeneratif değişimlere sahip hiflerin SEM görüntüleri Şekil 2, 3 ve 4’te gösterildi. *O. vulgare* ve *T. longicaulis*’un 4MİK sulu ekstraktına maruz kalmış ve maruz kalmamış *Penicillium expansum*’un hifal morfolojileri karşılaştırıldığında önemli morfolojik değişimler belirlendi. Sağlıklı *Penicillium expansum*’un hifal yapısı doğrusal, düzenli ve homojen olarak gözlemlendi. *O. vulgare* ve *T. longicaulis* sulu ekstraktlarının hifal morfoloji üzerine yaptığı belirlenen dejeneratif değişimleri; çökertme, yassılaştırma ve kırışık hücre yüzeyli hücreler olarak sıralayabiliriz. Hif üzerine kırışık hücre yüzeyli hücreler etkisi *T. longicaulis* sulu ekstraktlarında görülürken bu etki *O. vulgare* ekstraktlarında görülmedi. Bu bulgular uygulanan sulu bitki ekstraktlarının fitotoksik özelliklere sahip olduğunu doğrulamaktadır. Birçok ekstrakt bileşiğinin küf hücre duvarını ve zarlarını geçerek, zar proteinleri ve enzimlerle etkileşime girerek hücre metabolizmasını bozduğu ve sonuçta hücre ölümüne yol açtığı bildirilmiştir [23]. *O. vulgare* ve *T. longicaulis* ekstraktlarının *Penicillium expansum*’un hifal

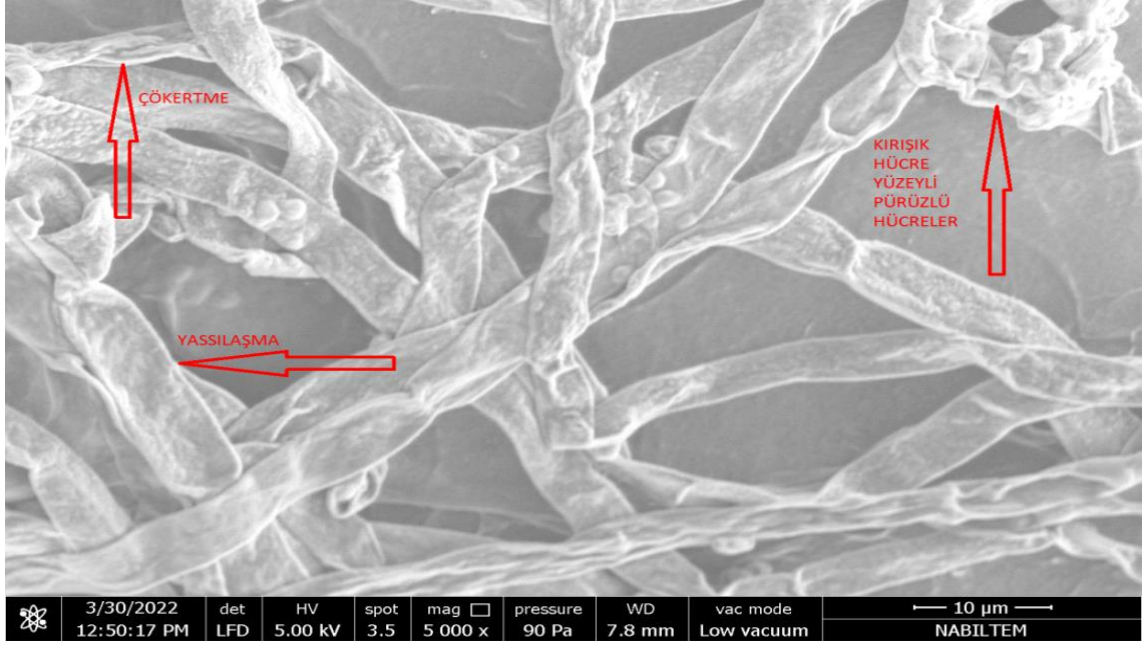
morfolojisi üzerine etkileri ilk kez bu araştırmada rapor edilmiştir. *O. vulgare* ve *T. longicaulis*'in *Alternaria tenuissima* ve *Trichothecium roseum* bitki patojeni küflerinin hifleri üzerine benzer etkileri SEM analizinde gözlenmiştir [24,25]. Fungal morfolojinin bozulmasının ve hifal büyümenin etkilenmesinin uygulanan bitki ekstraktlarının etkisi ile ilişkili olabileceğini ifade edebiliriz.



şekil 2. Bitki ekstraktına maruz kalmamış *Penicillium expansum* sağlıklı hifinin SEM görüntüsü



şekil 3. 4MIK *O. vulgare* sulu ekstraktına maruz kalmış *Penicillium expansum* hiflerinin SEM görüntüsü

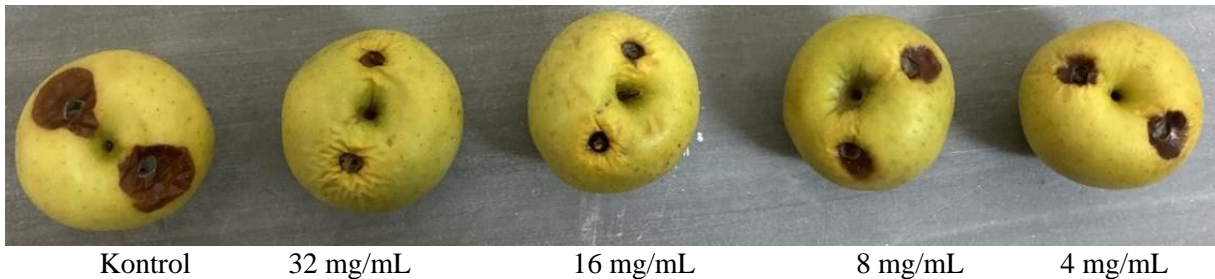


Şekil 4. 4MİK *T. longicaulis* sulu ekstraktına maruz kalmış *Penicillium expansum* hiflerinin SEM görüntüsü

D. ELMALARDA YAPAY OLARAK OLUŞTURULAN MAVİ KÜF ÇÜRÜMESİNE KARŞI SULU BİTKİ EKSTRAKTLARININ ETKİNLİĞİ

Yapay olarak elmalarda geliştirilen mavi küf çürümesinin şiddetinin azaltılmasında *O. vulgare* ve *T. longicaulis* sulu bitki ekstraktlarının 4, 8, 16 ve 32 mg/mL konsantrasyonlarının etkisinin sonuçları Şekil 5 ve 6'da gösterildi. Elmalarda mavi küf çürümesinin şiddetini sulu bitki ekstraktlarının test edilen bütün konsantrasyonları kontrol ile kıyaslandığında azalttığı belirlendi (Şekil 7). *O. vulgare* ekstraktları enfeksiyonun şiddetini *T. longicaulis*'e göre daha yüksek oranlarda engelledi. Hastalığın şiddetini en az *T. longicaulis*'in 4mg/mL konsantrasyondaki ekstraktları azalttı. Fungal patojenlere karşı antifungal potansiyelli bitki seçiminde bitki ekstraktlarının *in vitro* testleri ilk basamak olmasına rağmen, *in vitro* testlerde elde edilen pozitif sonuçların tekrar elde edilip edilemeyeceğini kontrol etmek için *in vivo* testlere ihtiyaç duyulmaktadır [26].

O. vulgare, *in vitro* durumlarda olduğu gibi *in vivo* şartlarda da *Penicillium expansum*'un misel büyümesi üzerine en yüksek etkiyi gösterdi. Fakat test edilen konsantrasyonlarda her iki bitki ekstraktı *Penicillium expansum*'un elmalarda meydana getirdiği lezyonların çaplarını azaltmasına rağmen küf gelişimini tamamen kontrol edemedi. *O. vulgare* ve *T. longicaulis* 32 mg/mL'de hastalığın şiddetini sırası ile %69,21 ve 65,02 gibi yüksek oranlarda azalttılar. Ekstraktların *in vitro* durumlardaki kadar etkili olamamasının nedeni meyve veya sebze dokusunun mineralleri, vitaminleri, nitrojen içeren bileşiklerinin düzeyi, pH'sı veya doğal fenolik bileşikler gibi özelliklerinden dolayı olabilir.



Kontrol

32 mg/mL

16 mg/mL

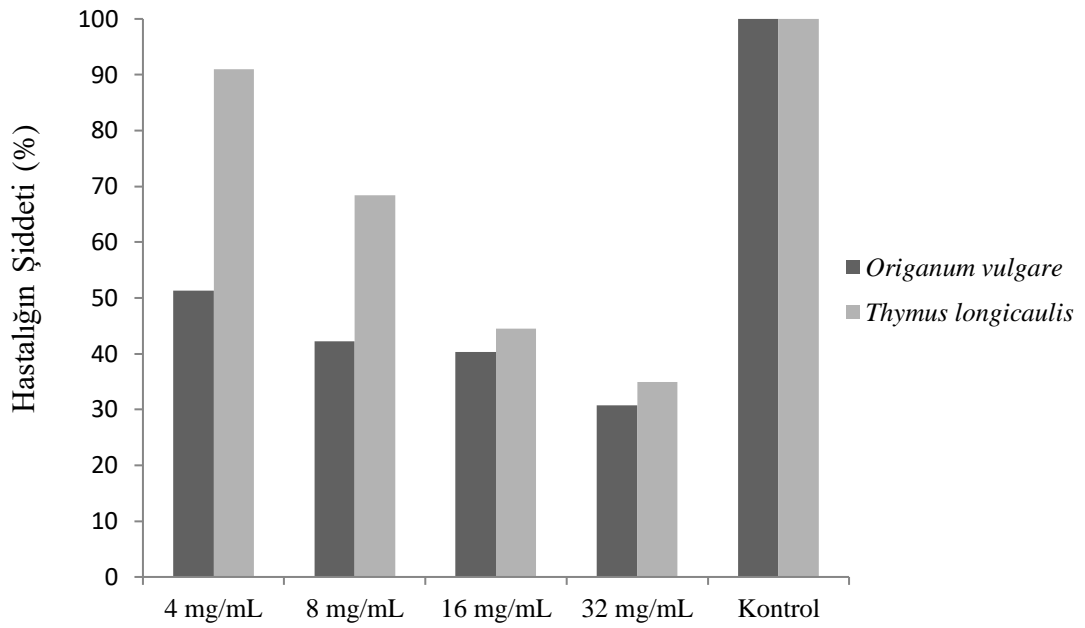
8 mg/mL

4 mg/mL

Şekil 5. Elmalarda *Penicillium expansum*'a karşı *O. vulgare* sulu ekstraktlarının *in vivo* etkisi.



Şekil 6. Elmalarda *Penicillium expansum*'a karşı *T. longicaulis* sulu ekstraktlarının *in vivo* etkisi.



Şekil 7. Elmalarda mavi küfün şiddeti üzerine sulu bitki ekstraktlarının etkileri (saklama süresi 7 gün, sıcaklık 20°C)

IV. SONUC

Yeni antifungal bileşiklerin potansiyel kaynaklarının belirlenmesi için bitkilerin bilimsel olarak incelenmesi önemlidir. Hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar *O. vulgare* ve *T. longicaulis*'in *Penicillium expansum*'un misel büyümesi üzerine antifungal etkinliğini, özellikle *O. vulgare* sulu ekstraktlarının mavi küfün kontrolü için oldukça etkin olduğunu kanıtlamıştır. Bütün bitkiler metabolizmalarında rolleri yeterince bilinmeyen sekonder metabolit olarak çok sayıda antifungal özellikte fenolik madde oluşturduğu bilinmektedir. Mavi küf enfeksiyonlarını kontrol edebilmek için *O. vulgare* sulu ekstraktının doğal bir antifungal madde olarak değerlendirilebileceğini ayrıca *O. vulgare*'nin içerdiği fenolik bileşiklerden hangisi veya hangilerinin *Penicillium expansum*'a karşı antifungal etkinliğinin belirlenmesinin uygun olacağını önerebiliriz.

V. KAYNAKLAR

- [1] Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı, *Tarım Ürünleri Piyasaları*, Elma, Ocak-2022.

- [2] N, Hendel, L. Larous, L. Belbey. “Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its in vitro inhibitory effect on *Penicillium digitatum*”. *International Food Research Journal*. vol. 23(4), pp. 1725-1732, 2016.
- [3] F. Reyes-Jurado, A.R. Navarro-Cruz, C.E. Ochoa-Velasco, E. Palou, A. López-Malo, R. Ávila-Sosa. “Essential oils in vapor phase as alternative antimicrobials: A review”. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol.60, pp.1641–1650, 2020.
- [4] G.P. Munkvold, R.H. Proctor, A. Moretti. “Mycotoxin Production in *Fusarium* According to Contemporary Species Concepts”. *Annu. Rev. Phytopathol.* vol. 59, pp.373-402, 2021.
- [5] R.D. Jeong, E.J. Shin, E.H. Chu, H.J. Park. “Effects of Ionizing Radiation on Postharvest Fungal Pathogens”. *Plant Pathol J.* vol.31, pp.176-180, 2015.
- [6] C.K. Jimdjio, H. Xue, Y. Bi, M. Nan, L. Li, R. Zhang, Q. Liu, L. Pu. “Effect of Ambient pH on Growth, Pathogenicity, and Patulin Production of *Penicillium expansum*”. *Toxins (Basel)*. Vol. 13, pp.550, 2021.
- [7] İ. Erper, Ç. Kalkan, G. Kaçar, M. Türkkın, “Elmada mavi küfe neden olan *Penicillium expansum*’a karşı bazı bor tuzlarının antifungal etkisi”. *Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci*, vol.34, pp.250-258, 2019.
- [8] N. Salhi, S.A. Mohammed Saghir, V. Terzi, I. Brahmi, N. Ghedairi, S. Bissati, “Antifungal Activity of Aqueous Extracts of Some Dominant Algerian Medicinal Plants”. *Biomed Res Int*. doi: 10.1155/2017/7526291, 2017.
- [9] A.A. El-Shahir, D.A. El-Wakil, A.A.H. Abdel Latef, N.H. Youssef, “Bioactive Compounds and Antifungal Activity of Leaves and Fruits Methanolic Extracts of *Ziziphus spina-christi* L.”. *Plants*. Vol.11, pp.746, 2022.
- [10] I. Talibi, L. Askarne, H. Boubaker, E.H. Boudyach, F. Msanda, B. Saadi, A. Ait Ben Aoumar, “Antifungal activity of some Moroccan plants against *Geotrichum candidum*, the causal agent of postharvest citrus sour rot”. *Crop Protection*, vol.35, pp.41-46, 2012.
- [11] E.M. Soyulu, Ş. Kurt, S. Soyulu. “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*, vol.143, pp.183-189, 2010.
- [12] CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, formerly NCCLS, National Committee for Clinical and Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard, 2nd edition, NCCLS document M27-A2, NCCLS, Wayne, PA. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; Approved Standard, 1st edition, NCCLS document M 38 A, Wayne, PA. 2002.
- [13] J. Moraes Bazioli, J.R. Belinato, J.H. Costa, D.Y. Akiyama, J.G.M. Pontes, K.C. Kupper, F. Augusto, J.E. de Carvalho, T.P. Fill. “Biological Control of Citrus Postharvest Phytopathogens”. *Toxins*. Vol. 11, pp. 460, 2019.
- [14] M. Parvu, L. Vlase, L. Fodorpatiki, O. Parvu, O. Rosca-Casian, C. Bartha, L. Barbu-Tudoran, & A.E. Parvu, “Chemical Composition of Celandine (*Chelidonium majus* L.) Extract and its Effects on *Botrytis tulipae* (Lib.) Lind Fungus and the Tulip”. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, vol.41, no.2, pp.414-426, 2013.

- [15] D. Nigussie, G. Davey, T.B. Tufa, M. Brewster, B.A. Legesse, A. Fekadu, E. Makonnen. “Antibacterial and Antifungal Activities of Ethiopian Medicinal Plants: A Systematic Review”. *Front Pharmacol.* Vol.12, 633921, 2021.
- [16] A. Hernández-Ceja, P.D. Loeza-Lara, F.J. Espinosa-García, Y.M. García-Rodríguez. “Medina-Medrano JR, Gutiérrez-Hernández GF, Ceja-Torres LF. In Vitro Antifungal Activity of Plant Extracts on Pathogenic Fungi of Blueberry (*Vaccinium* sp.)”. *Plants (Basel)*. Vol,10, pp.852, 2021.
- [17] F. Tabatabaei-Yazdi, B. Alizadeh-Behbahani, A. Vasiee, S.A. Mortazavi, and F. Tabatabaei-Yazdi, “Antifungal Activity of Extracts *Biarum carduchorum* (Kardeh) on *Aspergillus fumigatus* and *Penicillium expansum* in vitro”. *Zahedan J Res Med Sci.*, vol.18, no.4, pp. 6464. 2016.
- [18] S.V. Knežević, I. Ivan Kosalec, M. Babac, M. Petrović, J. Ralić, B. Matica, B. Blažeković, “Antimicrobial activity of *Thymus longicaulis* C. Presl essential oil against respiratory pathogens”. *Cent. Eur. J. Biol.*, vol.7, pp.1109-1115, 2012.
- [19] V. Bhat, S.M. Sharma, V. Shetty, C.S. Shastry, C.V. Rao, S. Shenoy, S. Saha, S. Balaji. “Characterization of Herbal Antifungal Agent, *Origanum vulgare* against Oral *Candida* spp. Isolated from Patients with *Candida*-Associated Denture Stomatitis: An *In vitro* Study”. *Contemp Clin Dent*. Vol,9(1), pp.3-10, 2018.
- [20] A.C.L.P. de Campos, R.D.S. Nandi, S. Scandorieiro, M.C. Gonçalves, G.F. Reis, M. Dibo, L.P. Medeiros, L.A. Panagio, E.P. Fagan, R.K.T. Kobayashi. “Antimicrobial effect of *Origanum vulgare* (L.) essential oil as an alternative for conventional additives in the Minas cheese manufacture”. *LWT*. Vol,157, pp.113063–113069, 2022.
- [21] V.I. Gwa, A.O. Nwankiti and E.J. Ekefan, “Antifungal Effect of Five Aqueous Plant Extracts on Mycelial Growth of *Penicillium expansum* Isolated from Rotted Yam Tubers in Storage”. *Acta Scientifica Agriculture*, vol. 2,no.6, pp.65-70, 2018.
- [22] H. Ikeura, N. Somsak, F. Kobayashi, S. Kanlayanarat, Y. Hayata, “Application of selected plant extracts to inhibit growth of *Penicillium expansum* on apple fruits”. *Plant Pathology Journal*, vol.10, no.2, pp.79-84, 2011.
- [23] P.N. Achar, P. Q., E.C. Adukwu, A. Sharma , H.Z. Msimanga, H. Nagaraja and M.Y. Sreenivasa, “Investigation of the Antifungal and Anti-Aflatoxigenic Potential of Plant-Based Essential Oils against *Aspergillus flavus* in Peanuts”. *J. Fungi*, vol.6, no.383; doi:10.3390/jof6040383, 2020.
- [24] B. Balkan, S. Balkan, H. Aydoğdu, N. Güler, H. Ersoy, B. Aşkın. “Evaluation of Antioxidant Activities and Antifungal Activity of Different Plants Species Against Pink Mold Rot-Causing *Trichothecium roseum*”. *Arab J Sci Eng.* vol, 42, pp. 2279–2289, 2017.
- [25] S. Balkan, B. Balkan. “in vitro Efficiency of Certain Plant Extracts Against The Plant Pathogen *Alternaria tenuissima*”. *Kırklareli University Journal of Engineering and Science*, vol,8(1), pp. 25-37, 2022.
- [26] N. Salhi, S.A. Mohammed Saghir, V. Terzi, I. Brahmi, N. Ghedairi, S. Bissati. “Antifungal Activity of Aqueous Extracts of Some Dominant Algerian Medicinal Plants”. *Biomed Res Int.* vol, 2017; doi: 10.1155/2017/7526291, 2017.