

Kurutmalık Biber Meyvelerinde İç Çürüklüğüne Neden Olan Bazı Fungal Etmenlere Karşı Bitki Uçucu Yağlarının *in vitro* Antifungal Etkileri

Mehmet ATAY¹, Soner SOYLU²

¹Adıyaman Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Kahta-ADİYAMAN, ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü 31034 Antakya-HATAY

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

✉: soylu@mku.edu.tr

ÖZET

Hasat öncesi ve sonrası tarımsal ürünlerde meyve iç çürüklüğüne neden olan fungal etmenler ciddi kalite ve verim kayıplarına neden olurken, gıdalarda ürettikleri mikotoksinler tüketiciler için sağlık riski oluşturur. Bu çalışmada, Hatay ilinde yetiştirilen ve yerel pazarlarda satılan kurutmalık biber meyvelerinde iç çürüklüğü belirtisine neden olan fungal hastalık etmenlerinin, izolasyonu, morfolojik ve MALDI-TOF yöntemleri ile tanılanması, yaygın hastalık etmenlerine karşı farklı bitki uçucu yağlarının antifungal etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Hastalık belirtisi gösteren meyve örneklerinden yapılan izolasyonları müteakiben yapılan morfolojik ve MALDI-TOF tanılama çalışmaları sonucunda *Alternaria alternata* ve *Aspergillus niger* en sık rastlanan fungal hastalık etmenleri olarak belirlenmiştir. Hastalık etmenlerine karşı kekik (*Thymus vulgaris* L., *Tymbra spicata* L. ve *Origanum syriacum* L.), rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.), defne (*Laurus nobilis* L.) ve okaliptüs (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) uçucu yağlarının buhar fazında farklı dozlarının antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Fungus izolatlarına karşı en yüksek antifungal etkinlik (% 100 engelleme) *Thymbra spicata*, *Origanum syriacum* ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarının 4.0-6.0 µl petri⁻¹ dozlarında gözlenmiştir. Test edilen fungal izolatlara karşı en düşük antifungal etkinlik ise *Eucalyptus camaldulensis* (16.0-40.0 µl petri⁻¹) uçucu yağı tarafından gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarla uçucu yağların antifungal özellikleri ve EC₅₀ değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bitki uçucu yağları, doza bağlı bir şekilde test edilen izolatlara karşı antifungal etkinlik göstermişlerdir. Elde edilen sonuçlar bitki uçucu yağlarının, kurutmalık tarımsal ürünlerde biyofumigant olarak uygulanabileceğini göstermiştir.

Fitopatoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihiçesi

Geliş Tarihi : 10.03.2022

Kabul Tarihi : 21.04.2022

Anahtar Kelimeler

Uçucu yağlar

Antifungal etkinlik

Biber

Alternaria alternata

Aspergillus niger

In vitro Antifungal Effects of Plant Essential Oils Against Some Fungal Disease Agents Causing Internal Rot of Dried Pepper Fruits

ABSTRACT

Fungal disease agents that cause internal fruit rot in agricultural products before and after harvest cause serious quality and yield losses. At the same time, the mycotoxins they produce in foods pose a health risk for consumers. In this study, it was aimed to isolate fungal disease agents that cause internal rot symptoms in dried pepper fruits grown in Hatay province and sold in local bazaars, to identify by morphological and MALDI-TOF methods, and to determine the antifungal effects of different plant essential oils against the most common disease agents. *Alternaria alternata* and *Aspergillus niger* were determined as the most common fungal disease agents following the result of isolations, morphological and MALDI-TOF diagnostic studies from fruit samples showing signs of disease. Antifungal effects of different vapor doses of essential oils of different thyme (*Thymus vulgaris* L., *Tymbra spicata* L. and *Origanum syriacum* L.), fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), laurel (*Laurus nobilis* L.) and eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) were investigated against fungal disease agents *in vitro* conditions. The

Phytopathology

Research Article

Article History

Received : 10.03.2022

Accepted : 21.04.2022

Keywords

Essential oils

Antifungal activity

Pepper

Alternaria alternata

Aspergillus niger

highest antifungal activities (100% inhibition) against fungal isolates were displayed by essential oils of *Thymbra spicata* (2.0-4.0 µl Petri⁻¹), *Origanum syriacum* (4.0 µl Petri⁻¹) and *Thymus vulgaris* (4.0-6.0 µl Petri⁻¹). *Eucalyptus camaldulensis* (16.0-40.0 Petri⁻¹) exhibited the lowest antifungal activity against tested fungal isolates. In addition, the antifungal properties and EC₅₀ values of essential oils were also determined. Plant essential oils showed antifungal effects against the tested fungal isolates in a dose-dependent manner. The results showed that plant essential oils might be applied as biofumigants in dried agricultural products.

Atıf Şekli:	Atay, M. & Soylu, S., (2023) Kurutmalık Biber Meyvelerinde İç Çürüklüğüne Neden Olan Bazı Fungal Etmenlere Karşı Bitki Uçucu Yağlarının <i>in vitro</i> Antifungal Etkileri. <i>KSÜ Tarım ve Doğa Derg</i> 26(1): 76-89. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1085859
To Cite :	Atay, M. & Soylu, S., (2023) <i>In vitro</i> Antifungal Effects of Plant Essential Oils Against Some Fungal Disease Agents Causing Internal Rot of Dried Pepper Fruits. <i>KSU J. Agric Nat</i> 26(1): 76-89. https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1085859

GİRİŞ

Solanaceae familyasında yer alan biber (*Capsicum annuum* L.), Dünyada ve Türkiye’de en fazla üretilen sebzelerden biri olup, gerek taze olarak gerekse kurutmalık veya baharat olarak oldukça fazla tüketilmektedir. 2020 yılı biber üretim verilerine göre Türkiye, sırasıyla Çin, Meksika ve Endonezya’dan sonra 2 636 905 ton üretim miktarı ile dünyada en çok taze biber üretimi gerçekleştiren 4. ülke olurken, aynı yıl 16 271 ton kurutmalık biber üretimiyle ise dünya genelinde 24. sırada yer almıştır (Wien, 1997; Anonymous, 2022).

Kurutmalık biber ve bunlardan üretilen baharatlar, fungal etmenlerin ürettiği oldukları mikotoksinlerden en fazla etkilenen bitkisel ürünlerden biridir (Özkaya ve ark., 1999; Duman, 2010). Kurutmalık olarak tüketilen biberler üzerinde gelişen ve insan sağlığına ciddi zararlar verebilen mikotoksinlerden kaynaklı ürün kayıpları son yıllarda önemli bir boyuta ulaşmıştır (Ham ve ark. 2016). Farklı ürünlerde toplamda 400’e yakın fungal etmen tarafından oluşturulan mikotoksinlerin, insanlarda ve hayvanlarda doğrudan veya dolaylı bir şekilde ciddi sağlık sorunlarına sebep oldukları farklı çalışmalarda bildirilmiştir (Hussein & Brasel, 2001; Smith, 2001; Weidenbörner, 2014; Hontanaya ve ark., 2015; Öksüztepe & Erkan, 2016).

Özellikle *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium* ve *Fusarium* cinslerine ait türlerinin en fazla mikotoksin oluşturan hastalık etmenleri oldukları farklı çalışmalarda bildirilmiştir (McKee, 1995; Kabak & Dobson, 2017).

Mikotoksinler, gıda ürünlerine bulaştıktan sonra çevresel koşullara dayanıklı olmalarından dolayı bu ürünlerden uzaklaştırılmaları oldukça zor olmaktadır. Bu nedenle bulaşıklık oluşmadan önce alınacak koruyucu tedbirler, ürünlerde mikotoksin oluşumunu sınırlandırmak adına önemlidir (Dvegowda ve ark. 1998; Smith, 2001). Mikotoksin oluşturan funguslarla mücadelede başvurulan

yöntemlerin başında kimyasal fungusit uygulamaları gelmektedir. Ancak kullanılan kimyasallara fungal etmenlerin zamanla dayanıklılık kazanması, mücadele etkinliğini azaltabilmektedir (Smith, 2001; Dwivedy ve ark., 2016).

Son zamanlarda bu etmenlerle mücadelede kullanılan kimyasal pestisitlerin insan sağlığına, doğaya, çevreye ve hedef dışı canlılara olan zararlarının artması ve insanların bu maddelerin kullanımı konusunda bilinçlenmesinden dolayı kimyasal pestisit kullanımı konusunda daha mesafeli durulmaktadır. Bu yaklaşımlar neticesinde, bakteriyel ve fungal kökenli hastalık etmenleriyle kimyasal pestisitlere alternatif, insan sağlığına ve doğaya dost mücadele yöntemlerinin araştırılması ve geliştirilmesi zorunluluğu ortaya çıkmıştır (Soliman & Badeaa, 2002; Soylu ve ark., 2022).

Son yıllarda bilim insanları tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağ, ekstrakt ve doğal bileşenlerinin bitkisel ürünlerde sorun olan fungal, bakteriyel hastalık etmenleri ve zararlıların yanısıra gıdasal ürünlerde mikotoksin oluşturan *Aspergillus*, *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Penicillium* vb. cinslerine dahil farklı fungal türlere karşı kimyasal pestisitlere alternatif kullanılabilme potansiyellerinin araştırılmasına yönelik çalışmalara yoğunlaşmışlardır (Soylu ve ark., 2005; Askun ve ark., 2008; Sertkaya ve ark., 2010; Soylu ve ark., 2010; Kurt ve ark., 2011, Tyagi & Malik, 2011; Otoni ve ark., 2014; Nazareth ve ark., 2016; Hu ve ark., 2017; Kaya ve ark., 2018; Kara ve ark., 2022; Atay & Soylu, 2022). Yapılan literatür araştırmasında farklı baharat ve kuruyemişlerde mikotoksin oluşturan fungal tür(ler)e karşı pekçok sayıda çalışma mevcutken, biber meyvelerinde iç çürümelere neden olan fungal hastalık etmenlerine karşı bitki uçucu yağların antifungal etkinliği konusunda yapılmış oldukça sınırlı sayıda çalışmalar bulunmaktadır.

Bu çalışmada, (i) Hatay ili genelinde yetiştirilen ve yerel aktarlarla pazarlarda satılan kurutmalık biber

meyvelerinde iç çürüklüğün neden olan fungal hastalık etmenlerinin izolasyonu, (ii) morfolojik ve MALDI-TOF ile tanılanması, (iii) yaygın olarak belirlenen mikotoksin oluşturma potansiyeline sahip fungal etmenlerden *Alternaria alternata* ve *Aspergillus niger*'e karşı farklı bitki türlerinden (*Thymus vulgaris* L., *Thymbra spicata* L., *Origanum syriacum* L., *Foeniculum vulgare* Mill., *Laurus nobilis* L. ve *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) elde edilmiş bitki uçucu yağlarının antifungal etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmanın ana materyallerini oluşturan fungal izolatlar *Aspergillus niger* ve *Alternaria alternata* yapılan sörveylerde toplanan kurumuş veya iç çürüklüğü belirtisi gösteren biberlerden izole edilmiştir. Çalışmada antifungal etkileri farklı bitki patojeni fungal ve bakteriyel hastalık etmenlerine karşı araştırılan *Thymus vulgaris*, *Thymbra spicata*, *Origanum syriacum*, *Laurus nobilis*, *Foeniculum vulgare* ve *Eucalyptus camaldulensis* uçucu yağlarının, kimyasal içerikleri önceden belirlenmiş olmaları nedeniyle seçilmişlerdir. Fungal hastalık etmenlerinin izolasyonu, tanısı ve uçucu yağların antifungal etkilerinin belirlendiği çalışmalarda kullanılan Patates Dekstroz Agar (PDA) besi yeri (Merck, Darmstad, Germany) kullanılmıştır.

Bitkilerden Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Funguslara karşı antifungal etkileri araştırılan uçucu yağlar, kurutulan bitkilerin farklı kısımlarından elde edilmiştir. *Thymus vulgaris*, *Thymbra spicata*, *Origanum syriacum*, *Laurus nobilis* ve *Eucalyptus camaldulensis* uçucu yağları bitkilerin yapraklarından, *Foeniculum vulgare* uçucu yağı ise bitkinin tohumlarından daha önceden bildirildiği şekilde Clevenger tipi uçucu yağ çıkartma cihazı ile 3 saatlik buhar distilasyonu sonucu elde edilmiştir (Soylu ve ark., 2010). Elde edilen uçucu yağlar, çalışmalarda kullanılmak üzere içerisinde anhidroz sodyum sülfat bulunan koyu renkli cam şişelerde -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Fungal Etmenlerin İzolasyonu ve Tanısı

Hatay ilinin önemli biber ekim alanlarındaki tarlalarında hastalık belirtileri gösteren hasat olgunluğundaki biberler ile yerel aktar ve halk pazarlarından tesadüfen toplanmış kurutulmuş kırmızı baş biberleri hastalık etmenlerinin izolasyonunda kullanılmıştır. Hastalık belirtisi gösteren bitki dokuları yüzeysel olarak dezenfekte edildikten sonra 50 µg ml⁻¹ streptomisin sülfat içeren PDA besi ortamına ekimleri yapılmış ve 3-5 gün boyunca 25 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petrielerde gelişen fungus kolonilerinden saflaştırmalar yapılmış ve

denemelerde kullanılmak üzere tek spor izolatları elde edilmiştir (Soylu ve ark., 2021). Saf kültürler sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Fungal izolatların tür teşhisleri gerek morfolojik olarak (Dugan, 2006), gerekse MALDI-TOF (Soylu ve ark., 2020) analizleriyle belirlenmiştir.

Fungal İzolatların Patojenisite Testleri

Elde edilen fungal izolatların patojenisite testlerinde sağlıklı, taze kırmızı biber meyveleri kullanılmış ve testler 2 farklı şekilde uygulanmıştır. Birinci yöntem olarak, 5 günlük fungus kültürlerinin hazırlanan spor süspansiyonları (10⁵ spor ml⁻¹), sağlıklı biber meyveleri (n=5) içerisine (50 µl biber⁻¹ olacak şekilde) doğrudan enjekte edilmiş ve enjeksiyon bölgesi parafilmle sarılmıştır. İkinci yöntem olarak ise, yine 5 günlük fungus kültürlerinden alınan misel diski (6 mm çapında), steril koşullarda kesilen sağlıklı biber meyvesi (n=5) içerisine yerleştirilmiş ve sonradan kesilen doku parafilm ile sarılmıştır. 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, 24 °C sıcaklığa ayarlanmış inkübatörlerde 5-10 gün süre ile inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol olarak sağlıklı biber meyvelerin inokulasyonunda steril su ve steril PDA diski kullanılmıştır. Bu süre sonunda inokulasyon noktalarında ortaya çıkan iç çürüklüğü-yumuşaması belirtilerinden re-izolatlar elde edilmiştir. Elde edilen re-izolatlar, benzer teşhis yöntemleri kullanılarak orijinal izolatlarla karşılaştırılmış ve tanıları tekrar teyit edilmiştir.

Bitki Uçucu Yağlarının *Alternaria alternata* ve *Aspergillus niger*'in Misel Gelişimi Üzerine Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların fungal izolatların misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri PDA besi yeri içeren cam petri kaplarında (90 mm çapında) *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Bu amaçla 7 günlük kültürden alınan miselyal agar diskleri (6 mm), PDA besi yeri içeren (20 ml petri⁻¹) petri kaplarına inokule edilmiştir. Petri kapağının iç yüzeyinin merkezine ise mikro pipet yardımı ile uçucu yağların farklı konsantrasyonları (0.25-40.0 µl petri⁻¹) konulduktan sonra hızlı bir şekilde kapak kapatılarak, petrieler parafilm ile (2-3 kez) sarılmıştır. İşlem sonunda petrieler ters çevrilerek (kapak altta kalacak şekilde) 25 °C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol grubu petrilere aynı şekilde fungus diskleri yerleştirilmiş ancak uçucu yağ yerine sadece steril saf su emdirilmiştir. Kontrol petrielerinde fungus misel

gelişimi tüm petri yüzeyini kapladığında fungal koloni çapları ölçülerek değerlendirilmiş, her bir uçucu yağ için farklı konsantrasyonlarda engelleme oranı, (%) Abbott formülüne göre hesaplanmıştır.

$$\text{Engelleme (\%)} = [(K_{FG} - U_{FG}) / K_{FG}] \times 100$$

K_{FG} = Kontrol petrileredeki fungal gelişim (mm)

U_{FG} = Uygulama yapılmış petrileredeki fungal gelişim (mm)

Uçucu yağların farklı dozlarına ait antifungal etkinlik çalışmaları 3 tekrerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Yapılan denemeler iki farklı zamanda tekrarlanmıştır.

Uçucu Yağlarının *in vitro* Koşullarda Fungisidal ve Fungistatik Özelliklerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların en düşük engelleme konsantrasyonlarında (MIC)'daki antifungal etkilerinin fungisidal ya da fungistatik özellikle olup olmadığını belirlemek amacıyla, denemeler sonrası petrilere gelişme göstermeyen misel diskleri, taze PDA besisi yerine (n=3) aktarılmış ve 25°C'de 5 gün boyunca tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Misel diskleri yeni aktarıldıkları PDA besisi yeri üzerinde herhangi bir gelişme göstermemişse uçucu yağın antifungal etkisi fungisidal (tamamen engelleyen, öldürücü), misel gelişimi tekrar başlamış ise uçucu yağın antifungal etkisi fungistatik (geçici) olarak kayıt edilmiştir. Denemeler her uçucu yağın MIC dozu için 3 tekrerrür olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Yapılan denemeler iki farklı zamanda tekrarlanmıştır.

Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Farklı uçucu yağ konsantrasyonlarında ölçülen koloni çapları SPSS istatistik programı (SPSS Statistics 17.0) kullanılarak tek yönlü ANOVA ile analiz edilmiş, uygulamalar (yağlar ve dozları) arasındaki farklılık Tukey HSD Testi ile karşılaştırılmıştır (P<0.05). Uçucu yağların farklı konsantrasyonlarda misel gelişimini %50 düzeyinde engelleyen etkili konsantrasyonları (EC₅₀), her bir uçucu yağ için farklı konsantrasyonlardaki ortalamaları SPSS istatistik programının (Versiyon 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanıldığı Probit analiziyle değerlendirilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Kurutmalık Biberlerde Çürümelere Neden Olan Hastalık Etmenlerinin İzolasyonu, Tanılanması ve Patojenisite Testleri

Kurutmalık biber meyvelerinde çürümelere neden olan (Şekil 1A) fungal etmenleri belirlemek amacıyla yapılan izolasyonlarda *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Fusarium incarnatum*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* spp, *Penicillium italicum*, *P. digitatum*

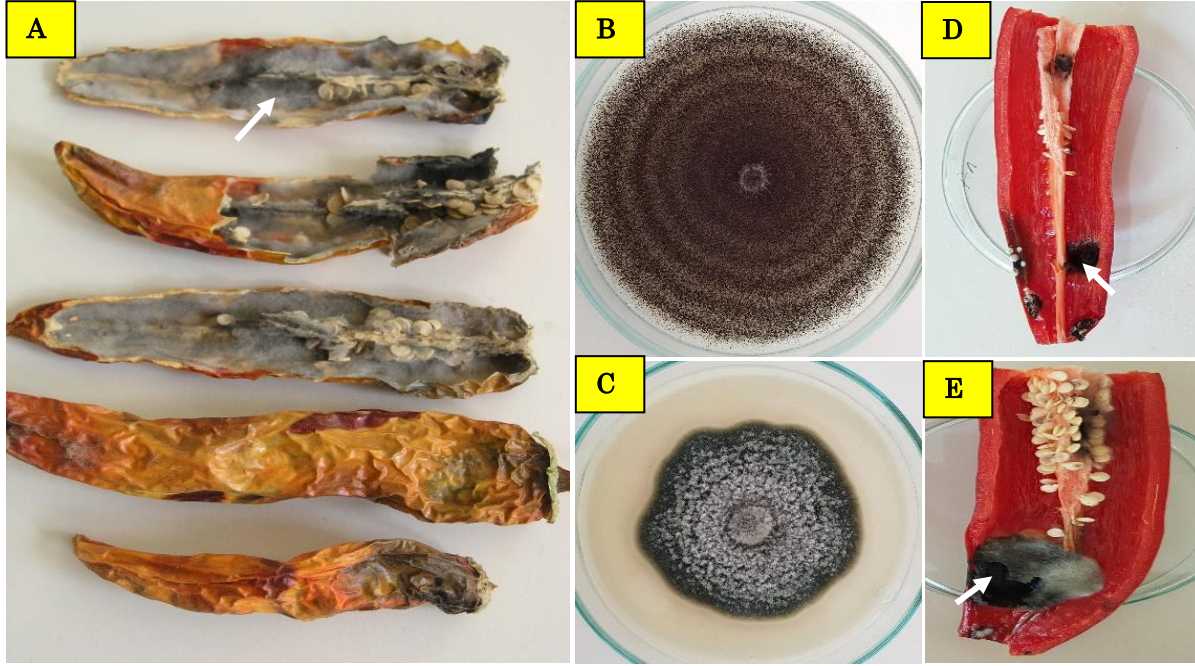
ve *Rhizopus stolonifer* gibi patojenik ve saprofitik karakterli fungal türler izole edilmiştir. Elde edilen izolatlar arasında bir çok bitkide hasat öncesi ve sonrası dönemde önemli derecede verim kayıplarına sebep olan fungal etmenlerden *Aspergillus niger* ve *Alternaria alternata* (Şekil 1B,C) en yaygın 2 tür olarak bulunmuştur. Morfolojik olarak ön teşhisleri yapılmış olan bu 2 türe ait izolatlar karşı uçucu yağların etkileri araştırılmadan önce sağlıklı biber meyvelerinde patojenisite testleri yapılmıştır. Yapılan patojenisite çalışmaları sonrası fungal izolatların, inokule edilmiş meyvelerin iç dokularında izole edildikleri doğal enfekteli meyvelerdeki belirtilere benzer belirtilere neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 1D,E). Patojenisite testi yapılan sağlıklı meyvelerde gelişen fungal izolatlar (re-izolatlar) için, orijinal izolatlar uygulanmış olan benzer teşhis yöntemleri uygulanmış, yapılan teşhis çalışmaları sonrası re-izolatların orijinal izolatlarla aynı türler oldukları belirlenerek bunların biberde patojen oldukları teyit edilmiştir. Türlerin morfolojik tanıları yapılan MALDI-TOF (Şekil 2) analizi ile teyit edilmiştir. Uçucu yağların antifungal etkinlikleri, izolasyonlar sırasında yaygın türler olarak belirlenen *Aspergillus niger* ve *Alternaria alternata* etmenlerine karşı araştırılmıştır.

Bitki Uçucu Yağlarının, *Alternaria alternata*'ya olan *in vitro* Antifungal Etkileri

A. alternata'ya karşı denemedeği uçucu yağların MIC değerlerine bakıldığında en etkili uçucu yağların, 2.0 µl petri⁻¹ dozla *T. spicata* ve *T. vulgaris* olduğu, bunları sırasıyla 4.0 µl petri⁻¹ dozla *O. syriacum*, 8.0 µl petri⁻¹ dozla *F. vulgare*, 16 µl petri⁻¹ doz ile *L. nobilis* ve *E. camaldulensis* uçucu yağlarının izlediği belirlenmiştir (Şekil 3).

Yapılan istatistik analiz sonucunda *A. alternata*'ya karşı denenen farklı uçucu yağ konsantrasyonları arasında farkın önemli olduğu belirlenmiş olup (Çizelge 1) bu uçucu yağ konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeninin misel gelişimini % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği ise Çizelge 2'de verilmiştir. Yapılan probit analiz sonrası uçucu yağların *A. alternata*'nın misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon

(EC₅₀) değerleri, *T. spicata* için 0.548 µl petri⁻¹, *O. syriacum* için 0.596 µl petri⁻¹, *T. vulgaris* için 0.682 µl petri⁻¹, *F. vulgare* için 1.305 µl petri⁻¹ ve *L. nobilis* için 3.351 µl petri⁻¹ olarak hesaplanırken, en yüksek EC₅₀ değeri *E. camaldulensis* için 3.355 µl petri⁻¹ olarak belirlenmiştir (Çizelge 1). Uçucu yağların *A. alternata*'ya karşı fungisidal/fungistatik etkilerine bakıldığında *T. spicata*, *T. vulgaris* ve *O. syriacum* uçucu yağları MIC değerlerindeki antifungal etkinliğin **fungisidal**, *F. vulgare*, *L. nobilis* ve *E. camaldulensis* uçucu yağları ise **fungistatik** özellikte olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2, Şekil 4).



Şekil 1. Hastalık belirtisi gösteren biber meyveleri (a) ve iç kısımlarda görülen fungal gelişim (ok). Hastalıklı biberlerin iç dokularından izole edilen *A. niger* (b) ve *A. alternata* (c) izolatlarının petrilere tipik koloni gelişimi. Patojenite testleri sonucu biber meyvelerinde *A. niger* (d) ve *A. alternata* (e) izolatlarının inokulasyon noktalarında oluşturdukları iç çürüklüğü belirtileri (ok).

Figure 1. (a) Pepper fruits showing disease symptoms and fungal mycelial growth seen in the interior (arrow) parts. Typical colony development fungal disease agents *A. niger* (b) and *A. alternata* (c) isolates obtained from the internal tissues of diseased peppers. Typical internal rot symptoms (arrows) caused by *A. niger* (d) and *A. alternata* (e) isolates at the inoculation points in pepper fruits following pathogenicity test.

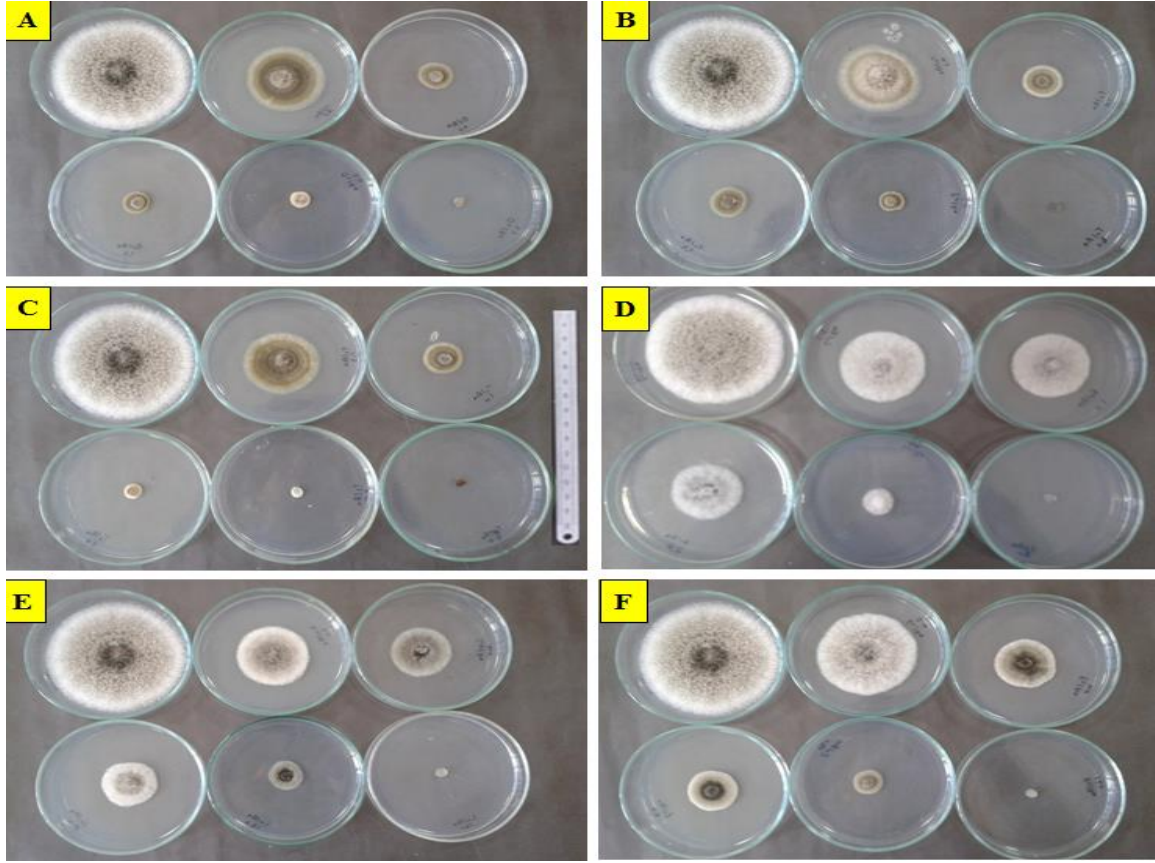
Analyte ID: As2
Analyte Creation Date/Time: 2017-04-14T02:24:06.751
Applied MSP Library(ies):
Applied Taxonomy Tree: Projects, Bruker Taxonomy, Taxonomy

Analyte ID: b5
Analyte Creation Date/Time: 2017-02-17T02:59:40.715
Applied MSP Library(ies):
Applied Taxonomy Tree: Projects, Bruker Taxonomy, Taxonomy

Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier	Rank (Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1 (++)	<i>Aspergillus niger</i> e7158 LLH	2.264	126754417	1 (+++)	<i>Alternaria alternata</i> DSM 62010 DSM	2.344	126754417
2 (++)	<i>Aspergillus niger</i> D_16_256_7_3 LLH	2.22	126754417	2 (++)	<i>Alternaria alternata</i> DSM 62006 DSM	2.071	126754417
3 (++)	<i>Aspergillus niger</i> 2008_146035 MUZ	2.18	126754417	3 (+)	<i>Alternaria alternata</i> 111116_04 IMD	1.976	126754417
4 (++)	<i>Aspergillus niger</i> 01 MPA_1261 MPA	2.128	126754417	4 (+)	<i>Alternaria alternata</i> DSM 12633 DSM	1.91	126754417
5 (++)	<i>Aspergillus niger</i> DSM 22593 DSM	2.063	126754417	5 (-)	<i>Alternaria alternata</i> DSM 1102 DSM	1.649	126754417

Şekil 2. Hastalık belirtisi gösteren biber meyvelerinden elde edilen *A. niger* ve *A. alternata* izolatlarının MALDI-TOF tanılama sonuçları.

Figure 2. MALDI-TOF identification results of *A. niger* and *A. alternata* isolates obtained from symptomatic pepper fruits



Şekil 3. *In vitro* koşullarda (A) *O. syriacum*, (B) *T. vulgaris*, (C) *T. spicata*, (D) *F. vulgare*, (E) *L. nobilis*, ve (F) *E. camaldulensis* uçucu yağlarının *A. alternata*'nın misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antifungal etkileri.

Figure 3. The antifungal effects of (A) *O. syriacum*, (B) *T. vulgaris*, (C) *T. spicata*, (D) *F. vulgare*, (E) *L. nobilis*, and (F) *E. camaldulensis* essential oils on inhibition of mycelial growth of the fungal agent *A. alternata*.

Çizelge 1. Farklı uçucu yağların uygulandığı petrilerde gelişen *A. alternata* koloni çapları (mm)

Table 1. Colony diameters (mm) of *A. alternata* in different essential oil applied petri plates

Farklı uçucu yağların misel gelişiminin (mm) engellenmesi üzerine etkinliği						
Doz	<i>T. spicata</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>O. syriacum</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>F. vulgare</i>
0	84.3e	84.3f	84.3f	81.7f	81.7f	73.7h
1	43.3d	53.7e	48.3e	47.3e	55.0e	49.3g
2	20.7c	25.3d	21.3d	38.3d	34.3d	44.0f
3	11.7b	16.7c	15.3c	31.0c	27.7c	40.3e
4	0.0a	11.0b	9.7b	22.3b	17.0b	33.7d
5	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	0.0a	16.7c
6	nt	nt	nt	nt	nt	6.3b
7	nt	nt	nt	nt	nt	0.0a
EC ₅₀	0.548	0.682	0.596	3.351	3.555	1.305

Ts, Tv ve Os Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, **2.0**, **4.0** µl petri⁻¹; Ln ve Ec Dozları: 0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, **16.0** µl petri⁻¹; Fv Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, **8.0** µl petri⁻¹

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

nt: bu dozda test edilmedi

Bitki Uçucu Yağlarının *Aspergillus niger*'in Misel Gelişiminin Engellenmesi Üzerine olan *in vitro* Antifungal Etkisi

Farklı uçucu yağların buhar fazında *A. niger*'in misel gelişimini engellemesi üzerine olan antifungal etki

sonuçları Çizelge 3 ve Şekil 5'de verilmiştir. *Aspergillus niger*'e karşı uçucu yağların MIC değerlerine incelendiğinde en etkili uçucu yağların 4.0 petri⁻¹ µl dozla *T. spicata* ve *O. syriacum* olduğu, bunları sırasıyla 6.0 µl petri⁻¹ dozla *T. vulgaris*, 8.0 µl

petri⁻¹ dozla *F. vulgare*, 35.0 ve 40.0 µl petri⁻¹ dozlar ile *L. nobilis* ve *E. camaldulensis* uçucu yağlarının izlediği görülmüştür. Yapılan istatistik analiz sonucunda *A. niger*'e karşı denenen farklı uçucu yağ konsantrasyonları arasında farkın önemli olduğu

belirlenmiş olup (Çizelge 3) bu uçucu yağ konsantrasyonlarının fungal hastalık etmeninin misel gelişimini % engellenmesi üzerine olan antifungal etkinliği Çizelge 4'de verilmiştir.

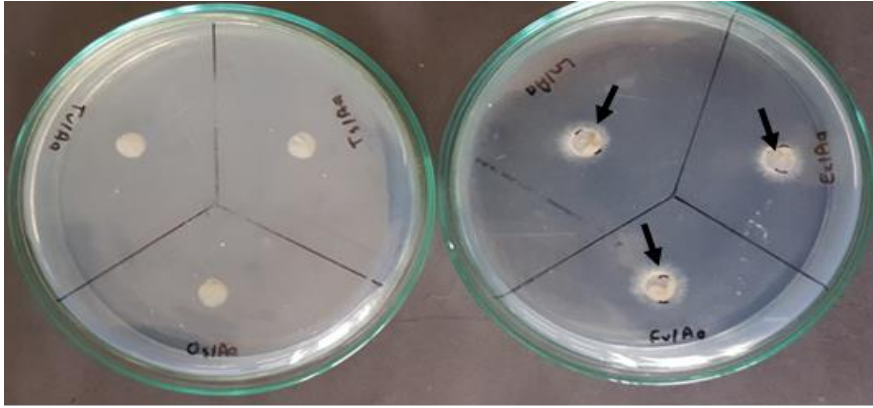
Çizelge 2. Farklı uçucu yağların *A. alternata*'nın misel gelişimini engelleme (%) potansiyelleri

Table 2. Inhibitory potentials (%) of different essential oil on mycelial growth of *A. alternata*

Doz	Farklı uçucu yağların misel gelişimini % engelleme potansiyelleri					
	<i>T. spicata</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>O. syriacum</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>F. vulgare</i>
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	48.6	36.4	42.7	42.1	32.7	33.1
2	75.5	70.0	74.7	53.1	58.0	40.3
3	86.2	80.2	81.8	62.1	66.1	45.3
4	100.0*	87.0	88.5	72.7	79.2	54.3
5	100.0	100.0*	100.0*	100.0**	100.0**	77.4
6	nt	nt	nt	nt	nt	91.4
7	nt	nt	nt	nt	nt	100.0**

Ts, Tv ve Os Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, **2.0, 4.0** µl petri⁻¹; Ln ve Ec Dozları: 0, 2.0, 4.0, 8.0, 12.0, **16.0** µl petri⁻¹; Fv Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, **8.0** µl petri⁻¹

* ve **, bu dozlarda uçucu yağın etkinliğinin **fungisidal** veya **fungistatik** olduğunu göstermektedir. nt: bu dozda test edilmedi.



Şekil 4. Fungal etmen *A. alternata*'ya karşı minimum engellemenin görüldüğü dozlarda uçucu yağların fungisidal ve fungistatik (ok) etkisi.

Figure 4. Fungicidal and fungistatic (arrow) effects of essential oil at minimum inhibition concentrations against the fungal agent *A. alternata*.

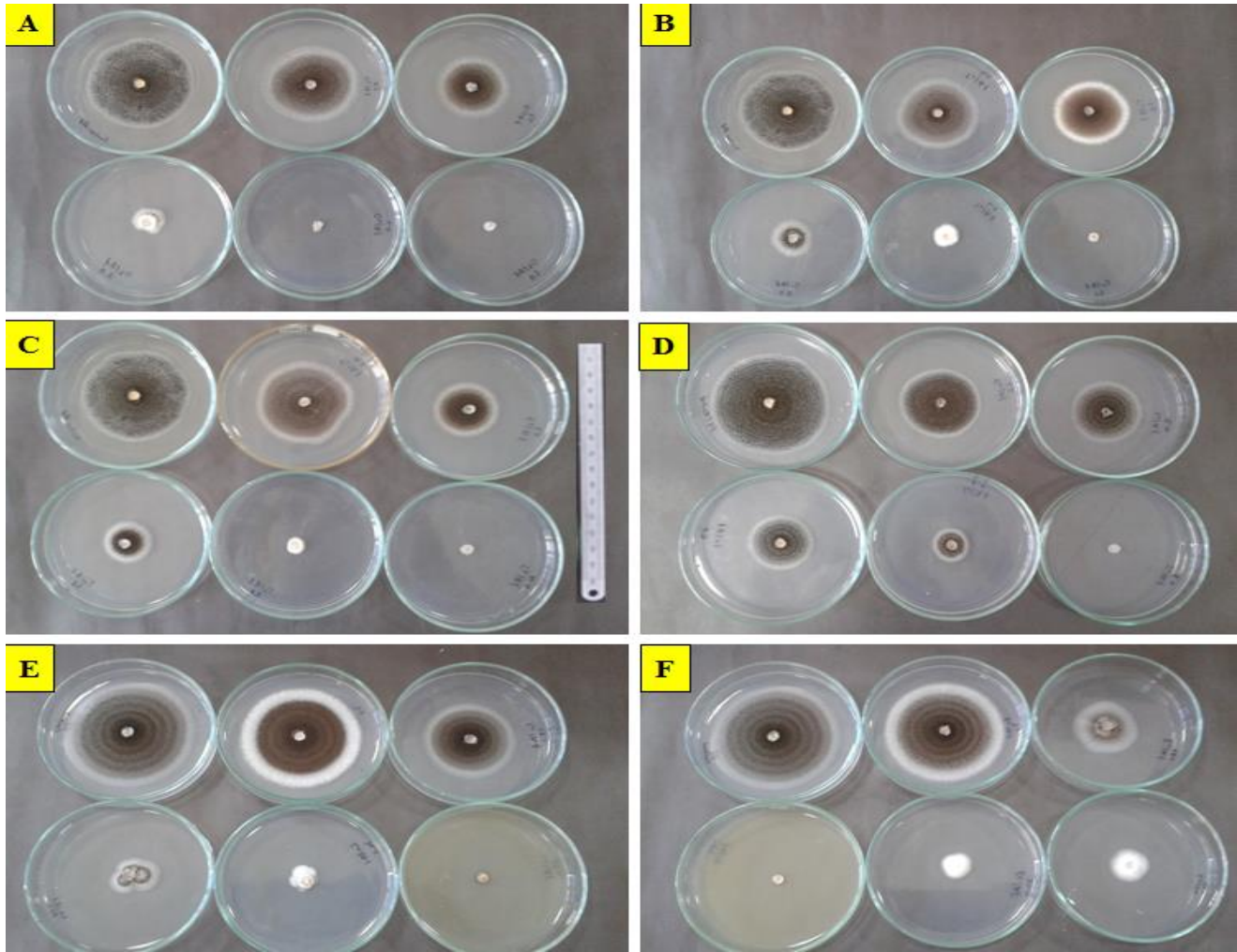
Çizelge 3. Farklı uçucu yağların uygulandığı petrilerde gelişen *A. niger*'in koloni çapları (mm)

Table 3. Colony diameters (mm) of *A. niger* in different essential oil applied petri plates

Doz	Farklı uçucu yağların misel gelişiminin (mm) engellenmesi üzerine etkinliği					
	<i>T. spicata</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>O. syriacum</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>F. vulgare</i>
0	59.7f	59.3g	59.3f	69.7h	69.7h	65.3i
1	57.7e	58.3f	54.3e	67.3g	69.3h	55.7h
2	40.3d	50.3e	43.3d	52.7f	40.7g	51.7g
3	29.3c	35.3d	31.3c	38.3e	30.7f	44.3f
4	11.3b	24.3c	19.3b	25.7d	23.3e	41.0e
5	0.0a	15.3b	0.0a	17.3c	19.7d	39.3d
6	nt	0.0a	0.0a	11.3b	15.0c	33.3c
7	nt	nt	nt	0.0a	8.7b	19.3b
8	nt	nt	nt	nt	0.0a	0.0a
EC₅₀	1.324	1.910	1.410	15.599	14.559	2.144

Ts, Tv ve Os Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, **4.0, 6.0** µl petri⁻¹; Ln ve Ec Dozları (sırasıyla): 0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, **35.0, 40.0** µl petri⁻¹; Fv Dozları (sırasıyla): 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, **8.0** µl petri⁻¹

Sütun içerisinde yer alan ortalama değerlerin yanındaki farklı küçük harfler, Tukey HSD testine göre uygulamalar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir (P<0.05). nt: bu dozda test edilmedi



Şekil 5. *In vitro* koşullarda (A) *O. syriacum*, (B) *T. vulgaris*, (C) *T. spicata*, (D) *F. vulgare*, (E) *L. nobilis*, ve (F) *E. camaldulensis* uçucu yağlarının *A. niger*'in misel gelişiminin engellenmesi üzerine olan antifungal etkileri.

Figure 5. The antifungal effects of (A) *O. syriacum*, (B) *T. vulgaris*, (C) *T. spicata*, (D) *F. vulgare*, (E) *L. nobilis*, and (F) *E. camaldulensis* essential oils on inhibition of mycelial growth of the fungal agent *A. niger*.

Çizelge 4. Farklı uçucu yağların *A. niger*'in misel gelişimini engelleme (%) potansiyelleri

Table 4. Inhibitory potentials (%) of different essential oils on mycelial growth of *A. niger*

Farklı uçucu yağların misel gelişimini % engelleme potansiyelleri						
Doz	<i>T. spicata</i>	<i>T. vulgaris</i>	<i>O. syriacum</i>	<i>L. nobilis</i>	<i>E. camaldulensis</i>	<i>F. vulgare</i>
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	3.4	1.7	8.4	3.3	0.5	14.8
2	32.4	15.2	27.0	24.4	41.6	20.9
3	50.8	40.4	47.2	45.0	56.0	32.1
4	81.0	59.0	67.4	63.1	66.5	37.2
5	100.0*	74.2	100.0	75.1	71.8	39.8
6	nt	100.0*	100.0*	83.7	78.5	49.0
7	nt	nt	nt	100.0**	87.6	70.4
8	nt	nt	nt	nt	100.0**	100.0**

Ts, *Tv* ve *Os* Dozları (sırasıyla): 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0 μl petri⁻¹; *Ln* ve *Ec* Dozları (sırasıyla): 0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0 μl petri⁻¹; *Fv* Dozları (sırasıyla): 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 μl petri⁻¹

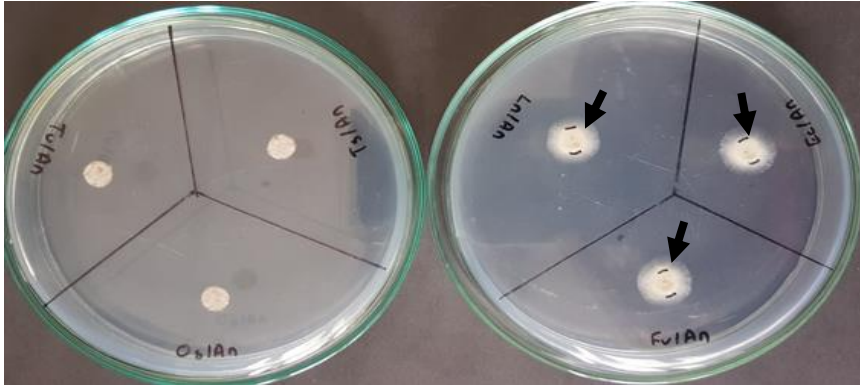
* ve **, bu dozlarda uçucu yağın etkinliğinin **fungisidal** veya **fungistatik** olduğunu göstermektedir. nt: bu dozda test edilmedi.

Yapılan probit analiz sonrası uçucu yağların *A. niger*'in misel gelişimini %50 oranında engelleyen etkili konsantrasyon (EC₅₀) değerleri, *T. spicata* için 1.324 μl petri⁻¹, *O. syriacum* için 1.410 μl petri⁻¹, *T.*

vulgaris için 1.910 μl petri⁻¹, *F. vulgare* için 2.144 μl petri⁻¹, *E. camaldulensis* için 14.559 μl petri⁻¹ olarak hesaplanırken, en yüksek EC₅₀ değeri için *L. nobilis* 15.599 μl petri⁻¹ olarak belirlenmiştir (Çizelge 3).

Uçucu yağların *A. niger*'e karşı fungisidal/fungistatik etkileri incelendiğinde *T. spicata*, *T. vulgaris* ve *O. syriacum* uçucu yağları **fungisidal**, *F. vulgare*, *L.*

nobilis ve *E. camaldulensis* uçucu yağları ise **fungistatik** etki gösterdikleri belirlenmiştir (Çizelge 4, Şekil 6).



Şekil 6. Fungal etmen *A. niger*'e karşı minimum engelleme görüldüğü dozlarda uçucu yağların fungisidal/fungistatik etkisi.

Figure 6. Fungicidal and fungistatic (arrow) effects of essential oil at minimum inhibition concentrations against the fungal agent *A. niger*.

Çalışmada kullanılan farklı uçucu yağların *Alternaria alternata* ve *Aspergillus niger*'in misel gelişimi üzerine olan etkilerinin araştırıldığı denemeler sonucunda elde edilen MIC değerleri, antifungal etki ve EC₅₀ değerleri Çizelge 5'de özetlenmiştir. Uçucu yağlar, MIC değerleri ve EC₅₀ sonuçları açısından değerlendirildiğinde fungal etmenlere karşı en yüksek antifungal etkinlik 3 farklı kekik türü olan *T. spicata*, *O. syriacum* ve *T. vulgaris* uçucu yağları tarafından gösterilmiş olup, bu yağları sırasıyla *F. vulgare* ve *L. nobilis* uçucu yağları takip etmiştir. Fungal etmenlere karşı en düşük etki ise *E. camaldulensis*'de görülmüştür.

Sonuçlar değerlendirildiğinde, test edilen her iki fungus türüne karşı MIC değerinde en güçlü antifungal etkiler (% 100 engelleme) sırasıyla *Thymra spicata* (2.0-4.0 µl petri⁻¹), *Origanum syriacum* (4.0 µl petri⁻¹) ve *Thymus vulgaris* (4.0-6.0 µl petri⁻¹) uçucu yağları tarafından gösterilmiş olup, *Foeniculum vulgare* uçucu yağı 8.0 µl petri⁻¹ ve *Laurus nobilis* uçucu yağı 16.0-35.0 µl petri⁻¹ dozlarında antifungal etki göstermişlerdir. Test edilen her iki türe karşı en düşük antifungal etki ise *Eucalyptus camaldulensis* (16.0-40.0 µl petri⁻¹) uçucu yağı uygulanmış petrilere kayıtlı edilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Çalışmalarda kullanılan farklı uçucu yağların *A. alternata* ve *A. niger*'in misel gelişimini engelleyen minimum engelleme konsantrasyonları (MIC) ve misel gelişimini %50 engelleyen etkili konsantrasyon değerleri (EC₅₀)

Table 5. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of different essential oils and effective concentration that inhibit mycelial growth by 50% (EC₅₀)

Uçucu Yağlar	Fungal etmenlerinin misel gelişimini engelleyen Minimum Engelleme Konsantrasyonları (MIC) ve EC ₅₀ Değerleri (µl petri ⁻¹)			
	<i>A. alternata</i>		<i>A. niger</i>	
	MIC	EC ₅₀	MIC	EC ₅₀
<i>T. spicata</i>	2.0*	0.548	4.0*	1.324
<i>O. syriacum</i>	4.0*	0.596	4.0*	1.410
<i>T. vulgaris</i>	4.0*	0.682	6.0*	1.910
<i>F. vulgare</i>	8.0**	1.305	8.0**	2.144
<i>L. nobilis</i>	16.0**	3.351	35.0**	15.599
<i>E. camaldulensis</i>	16.0**	3.555	40.0**	14.559

* ve **, bu dozlarda uçucu yağın etkinliğinin **fungisidal** veya **fungistatik** olduğunu göstermektedir.

Alternaria alternata ve *Aspergillus niger* ile bunların bağlı oldukları cinslerde yer alan diğer birçok türün insan ve hayvan sağlığına zararlı kuvvetli mikotoksin üretme yeteneklerine sahip oldukları bildirildiğinden (Rheeder ve ark. 2002; Jens

ve ark. 2007; Reddy ve ark., 2010) bu çalışmada bu türlerin mikotoksin üretme potansiyelleri ayrıca araştırılmamıştır. *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Fusarium* cinsine ait türlerin önemli derecede mikotoksin üreticisi funguslar oldukları

(McKee, 1995; Kabak & Dobson, 2017), *Aspergillus* türlerinin daha çok Aflatoxin (Uylaşer ve ark., 2005), *Alternaria* türlerinin ise Alternariol (AOH) ve Alternariol monometil (Yiannikouris & Jouany, 2002) gibi mikotoksinleri ürettikleri önceden yapılmış çalışmalarla belirlenmiştir.

Daha önce yapılmış çalışmalar ele alındığında uçucu yağ ve ekstraktlarının antimikrobiyal etkinlikleri daha çok insan/hayvan/gıda patojenlerine karşı araştırılmış olup, özellikle hasat sonrası mikotoksin oluşturan bitki patojenlerine karşı etkinlikleri, oldukça kısıtlı sayıda çalışmada araştırılmıştır. Yapılan literatür araştırmasında doğrudan biber meyvelerinde çürümelere neden olan *A. alternata* ve *A. niger* fungal etmenlerine karşı bitki uçucu yağların antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamış olup, biberden izole edilmiş bu fungal etmenlere karşı farklı bitki türlerinden elde edilmiş uçucu yağların etkinliği ilk kez bu çalışma ile ortaya koyulmuştur.

Depolanmış farklı tarımsal ürünlerde mikotoksin oluşturan *Aspergillus niger* (Sokolic-Mihalak ve ark., 2012; Ghaffar ve ark., 2015; Fitsiou ve ark., 2016; Hossain ve ark., 2016; Tsimogiannis ve ark., 2017) ve *Alternaria alternata*'ya karşı (Xu ve ark., 2014) çalışmalarda kullanılan bitkilerden farklı bitki uçucu yağ ve ekstraktlarının antifungal etkiler gösterdikleri bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar önceden yapılmış çalışma sonuçlarıyla karşılaştırıldığında sonuçların birbirlerini destekler nitelikte oldukları görülmektedir. Nitekim çalışmada kullanılan bitki uçucu yağların tamamı *A. alternata* ve *A. niger*'e karşı kullanıldıkları farklı konsantrasyonlara bağlı olarak değişen oranlarda antifungal etkiler göstermişlerdir. Uçucu yağların antifungal etkinliği, elde edildiği bitki türü, uygulandığı fungal tür ve konsantrasyonlarına bağlı olarak fungisidal ve fungisitativ etkiler gösterdiği yapılan *in vitro* çalışmalarla belirlenmiştir.

Çalışmalarda kullanılan bazı kekik türlerine ait uçucu yağlarının sebzelerde sorun olan toprak (*Rhizoctonia solani*, *Phytophthora capsici*, *Sclerotinia sclerotiorum*) ve yaprak kökenli (*Botrytis cinerea* ve *Phytophthora infestans*) birçok fungal hastalık etmenlerine karşı oldukça düşük konsantrasyonlarda antifungal etkilere sahip oldukları önceden yapılmış *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda da bildirilmiştir (Yeğen ve ark. 1992; Soylu ve ark., 2006; Soylu ve ark., 2007; Soylu ve ark., 2010). Bu çalışmada da, sözü geçen çalışmaları destekler nitelikte test edilen fungal etmenlere karşı *T. spicata*, *O. syriacum*, *T. vulgaris* uçucu yağları 2.0-4.0 petri⁻¹ konsantrasyonlarıyla en yüksek antifungal etki gösteren uygulamalar olmuştur.

Uçucu yağların, çalışmadaki fungal etmenlere karşı sergiledikleri antifungal etkiye, uçucu yağın içerdiği bileşenlerin etkinliklerinden kaynaklandığı

düşünülebilir. Nitekim uçucu yağların sahip oldukları fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerden sorumlu oldukları daha önce yapılan bir çok çalışmalarda bildirilmiştir (Tripathi ve ark., 2008). Bu çalışmada en yüksek antifungal etkiler sergileyen *T. spicata*, *O. syriacum*, *T. vulgaris* kekik türlerinin antifungal etkilerinin, uçucu yağının içeriğinde yer alan carvacrol ve thymol gibi fenolik bileşiklerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ravid & Putievsky, 1983; Nguefack ve ark., 2012; Mamadaliyeva ve ark., 2017; Khan ve ark., 2019; Lima ve ark., 2019; Karpinski, 2020; Souza ve ark., 2022). Yakın zamanda uçucu yağların antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmada (Kara ve ark., 2022), rezene uçucu yağı içeriğinde limonene, estragole ve *trans*-anethole, defne uçucu yağı içerisinde ise sabinene, eucalyptol, α -terpinyl acetate gibi uçucu bileşenlerin antifungal etkinlikten sorumlu oldukları bildirilmiştir. Bu çalışmaya benzer yapılmış başka çalışmalarda *trans*-anethole, terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1,8-cineole (eucalyptol) ve thymol gibi uçucu yağ ana bileşenlerinin *Fusarium* spp. *Aspergillus* spp. *Alternaria* sp. ve *Penicillium* sp. gibi fungal etmenlere karşı *in vitro* antimikrobiyal etkinliğe sahip oldukları bildirilmiştir (Mimica-Dukic ve ark., 2003; Morcia ve ark., 2012; Wang ve ark., 2018; Andrade-Ochoa ve ark., 2021). Çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağların bitkilerde ve gıdalarda sorun fungal ve bakteriyel hastalık etmenlere karşı oldukça yüksek düzeylerde antimikrobiyal etkilere sahip oldukları, kullanılan uçucu yağların antimikrobiyal dozlarında fungal ve bakteriyel etmenlerin hücrelerinde morfolojik bozulmalara neden oldukları daha önceden yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (Soylu ve ark., 2009; Mengüllüoğlu & Soylu, 2012; Bozkurt ve ark., 2020; Kara ve ark., 2020). Yakın zamanda yapılmış olan çalışmada biber meyvelerinden izole edilen, iç çürüklüğe neden olan *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata* ve *Fusarium incarnatum* gibi hastalık etmenlerine karşı farklı kimyasal yapıdaki isothiocyanate bileşiklerden methyl isothiocyanate (MITC), 2-propenyl (Allyl) isothiocyanate (AITC), benzyl isothiocyanate (BITC) ve ethyl isothiocyanate (EITC)'in oldukça düşük konsantrasyonlarda antifungal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Atay & Soylu, 2022).

Denemelerde kullanılan uçucu yağ ve ana bileşenlerin farklı fungus türlerine karşı antifungal etkilerinin olduğu bildirilmiş olmakla beraber, mevcut çalışmada kullanılan kekik türleri, defne, rezene ve okaliptus uçucu yağlarının biber meyvelerinde belirlenen *A. niger* ve *A. alternata* etmenlerine karşı güçlü antifungal etkilerinin, söz konusu ana bileşenlerden (özellikle oransal olarak fazla olduklarından dolayı carvacrol, *trans*-anethole ve eucalyptol vb.) kaynaklı olduğu düşünülebilir.

Kontrol petrilindeki misel gelişimiyle kıyaslandığında uçucu yağların, fungus misel gelişmelerini doza bağlı bir şekilde *in vitro*'da engelleyebildikleri tespit edilmiştir. Bununla beraber, engelleme bölgesindeki misel gelişimi ışık mikroskobu yardımıyla incelendiğinde bu bölgelerde bir takım yapısal bozukluklar meydana geldiği belirlenmiştir. Nitekim uçucu yağ uygulanan petrillerdeki fungusların hifleri ve konidilerinde yapılan mikroskobik gözlemler sonucunda hiflerde deformasyonlar, hif çapının incilmesi ve parçalanması, sitoplazmik pıhtılaşma, konidilerde şekil bozuklukları (özellikle misel gelişimini %100 engelleyen konsantrasyonlarda) gibi bazı morfolojik yapısal değişimlere sebep olduğu görülmüştür. Özellikle kekik türlerinin meydana getirdiği yapısal değişimlerin, diğer uçucu yağların oluşturduğundan çok daha fazla olduğunda da gözlemlenmiştir. Daha önce yapılmış bazı çalışmalarda da uçucu yağların fungusların misel yapısında benzer deformasyonlara neden olduğu, yapısal bozulmalara ise uçucu yağ içeriğinde bulunan ana bileşenlerin mikroorganizmanın hücre zarına zarar vermesi dolayısıyla hücre duvarı sentezini düzenleyen enzimatik reaksiyonların olumsuz etkilenebileceğinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2006; Soylu ve ark., 2007; Soylu ve ark., 2010; Lucas ve ark., 2012; Yong ve ark., 2015; Kachur & Suntres, 2020).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Sonuç olarak, bitkisel kökenli uçucu yağların hasat öncesi ve sonrası biber meyvelerinde çürümelere neden olan fungal hastalık etmenlerine karşı *in vitro* şartlarında antifungal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Özellikle kekik uçucu yağları en etkili antifungal etkiyi gösterirken *E. camaldulensis* uçucu yağı en düşük antifungal etkiyi göstermiştir. Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda fungal patojenlere karşı yüksek düzeyde etkileri saptanan uçucu yağların (farklı kekik türlerinden elde edilen uçucu yağlar), hastalık etmenleriyle mücadelede pestisitlere alternatif olabilecek çevre dostu doğal preparatlar oldukları değerlendirilmiştir.

Bitki uçucu yağlarının uçucu özellikleri göz önüne alındığında bunlar fumigant olarak teksele ve/veya karışım halinde preparatları yapılarak depolanmış ürünlerde sorun olan fungal hastalık etmenlerine karşı uygulanabileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, farklı bitki türlerinden elde edilecek uçucu yağların *in vitro* ve *in vivo* koşullarda araştırılması ve bitki patojenleriyle mücadelede pratikte kullanılmalarına imkan sağlayacak yöntemlerin geliştirilmesi de önem arz edecektir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri

Koordinatörlüğü tarafından 17YL013 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti-

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Andrade-Ochoa, S., Chacon-Vargas, K.F., Sanchez-Torres, L.E., Rivera-Chavira, B.E., Noguera-Torres, B. & Nevarez-Moorillon, G.V. (2021). Differential Antimicrobial Effect of Essential Oils and Their Main Components: Insights Based on the Cell Membrane and External Structure. *Membranes* 11, 405. <https://doi.org/10.3390/membranes11060405>
- Anonymous, (2022). Food and Agriculture Organization of The United Nations, FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Alınma Tarihi: 24.02.2022).
- Askun, T., Tumen, G., Satil, F. & Kilic, T. (2008). Effects of Some Lamiaceae Species Methanol Extracts on Potential Mycotoxin Producer Fungi. *Pharmaceutical Biology* 46, 688-694. <https://doi.org/10.1080/13880200802215792>
- Atay, M. & Soylu, 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, 290-302. <https://doi.org/10.29050/harranziraat.1136632>
- Bozkurt, İ.A., Soylu, S., Kara, M. & Soylu, E.M. (2020). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils Isolated from Medicinal Plants against Gall Forming Plant Pathogenic Bacterial Disease Agents. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi* 23, 1474-1482. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.723544>
- Dugan, F.M. (2006). The Identification of Fungi, An Illustrated Introduction With Keys Glossary and Guide to Literature. *American Phytopathological Society Press*, St. Paul, Minnesota, USA. pp. 176. <https://doi.org/10.1094/9780890545041>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.02.002>
- Dvegowda, G., Raju, M.V.L.N. & Swamy, H.V.N (1998). Mycotoxins, Novel solutions for Their Counteraction. *Feedstuffs* 70, 12-13.

- 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. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.08.010>
- Fitsiou, E., Mitropoulou, G., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Vamvakias, M., Bardouki, H., Panayiotidis, M.I., Galanis, A., Kourkoutas, Y., Chlichlia, K. & Pappa, A. (2016). Phytochemical Profile and Evaluation of The Biological Activities of Essential Oils Derived From The Greek Aromatic Plant Species *Ocimum basilicum*, *Mentha spicata*, *Pimpinella anisum* and *Fortunella margarita*. *Molecules* 21, Num. 1069. <https://doi.org/10.3390/molecules21081069>
- Ghaffar, A., Yameen, M., Kiran, S., Kamal, S., Jalal, F., Munir, B. & Jabbar, A. (2015). Chemical Composition and in-vitro Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils Extracted From Seven Eucalyptus Species. *Molecules* 20, 20487-20498. <https://doi.org/10.3390/molecules201119706>
- 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. <https://doi.org/10.1007/s12275-016-6480-2>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.008>
- Hossain, F., Follett, P., Vu, K.D., Harich, M., Salmieri, S. & Lacroix, M. (2016). Evidence for Synergistic Activity of Plant-Derived Essential Oils Against Fungal Pathogens of Food. *Food Microbiology* 53, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.08.006>
- Hu, Y., Zhang, J., Kong, W., Zhao, G. & Yang, M. (2017). Mechanisms of Antifungal and Anti Aflatoxigenic Properties of Essential Oil Derived From Turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry* 220, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.179>
- Hussein, H.S. & Brasel, J.M. (2001). Toxicity, Metabolism and Impact of Mycotoxins on Humans and Animals. *Toxicology* 167, 101-134. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00471-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00471-1)
- Jens, F.C., Jørn, S., Robert, S.A., Thomas, L.O. & Ulf, T. (2007). Fumonisin B2 Production by *Aspergillus niger*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55, 9727–9732. <https://doi.org/10.1021/jf0718906>
- Kabak, B. & Dobson, A.D.W. (2017). Mycotoxins in Spices and Herbs-An Update. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 57, 18-34. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.772891>
- Kachur, K. & Suntres, Z. (2020). The Antibacterial Properties of Phenolic Isomers, Carvacrol and Thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60, 3042-3053. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>
- Kara, M., Soylu, S., Türkmen, M. & Kaya, D.A. (2020). Determination and Antifungal Activities of Laurel and Fennel Essential Oils Against Fungal Disease Agents of Cypress Seedlings. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi* 17, 264-275. <https://doi.org/10.33462/jotaf.663452>
- Kara, M., Türkmen, M. & Soylu, S. (2022). Rezene ve Defne Uçucu Yağ Karışımlarının Kimyasal Bileşenlerinin ve *Pestalotiopsis funerea*'ya Karşı Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi* 25, 113-126. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.904966>
- Karpinski, T.M. (2020). Essential oils of Lamiaceae family plants as antifungals. *Biomolecules* 10, 103. <https://doi.org/10.3390/biom10010103>
- Kaya, K., Sertkaya, E., Üremiş, İ. & Soylu, S. (2018). Determination of Chemical Composition and Fumigant Insecticidal Activities of Essential Oils of Some Medicinal Plants against the Adults of Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus*. *KSU Journal of Agriculture and Nature* 21, 708-714. <https://doi.org/10.18016/ksudobil.386176>
- Khan, M., Khan, S.T., Khan, M., Mousa, A.A., Mahmood, A. & Alkhatlan, H.Z. (2019). Chemical diversity in leaf and stem essential oils of *Origanum vulgare* L. and their effects on microbicidal activities. *AMB Express* 9, 176. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0893-3>
- Kurt, S., Gunes, 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. <https://doi.org/10.1002/ps.2126>
- Lima, J.C., Gomes, S.M., Lima, E.D., Pereira, F.D. & Lima, I.O. (2019). Carvacrol and Thymol as Potential Preservatives Against *Aspergillus* In Maize Grains. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 31, 825-829. <http://dx.doi.org/10.9755/ejfa.2019.v31.i11.2036>
- Lucas, G.C., Alves, E., Pereira, R.B., Perina, F.J. & de Souza, R.M. (2012). Antibacterial Activity of Essential Oils on *Xanthomonas vesicatoria* and Control of Bacterial Spot in Tomato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 47, 351-359. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000300006>
- Mamadaliyeva, N.Z., Akramov, D.K., Ovidi, E., Tiezzi, A., Nahar, L., Azimova, S.S. & Sarker, S.D. (2017). Aromatic medicinal plants of the Lamiaceae family from Uzbekistan: ethnopharmacology, essential oils composition, and biological activities. *Medicines* 4, 8. <https://doi.org/10.3390/medicines4010008>
- McKee, L.H. (1995). Microbial Contamination of Spices and Herbs, A Review. *Lebensmittel-*

- Wissenschaft Technologie* 28, 1-11. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80004-2](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80004-2)
- Mengüllüoğlu, M. & Soyly, S. (2012). Antibacterial Activities of Essential Oils From Several Medicinal Plants Against the Seed-Borne Bacterial Disease Agent *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*. *Research on Crops* 13, 641-646.
- Mimica-Dukić, N., Božin, B., Soković, M., Mihajlović, B. & Matavulj, M. (2003). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Three Mentha Species Essential Oils. *Planta Medica* 69, 413-419. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2003-39704>
- Morcia, C., Malnati, M. & Terzi, V. (2012). *In vitro* Antifungal Activity of Terpinen-4-ol, Eugenol, Carvone, 1,8-Cineole (Eucalyptol) and Thymol Against Mycotoxigenic Plant Pathogens. *Food Additives & Contaminants: Part A* 29, 415-22. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.643458>
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.003>
- Nguefack, J., Tamgue, O., Dongmo, J.B.L., Dakole, C.D., Leth, V., Vismer, H.F., Amvam Zollo, P.H. & Nkengfack, A.E. (2012). Synergistic Action between Fractions of Essential Oils from *Cymbopogon Citratus*, *Ocimum gratissimum* and *Thymus vulgaris* Against *Penicillium expansum*. *Food Control* 23, 377-383. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.08.002>
- Öksüztepe, G. & Erkan, S. (2016). Mikotoksinler ve Halk Sağlığı Açısından Önemi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 5, 190-195. <https://doi.org/10.31196/huvfd.317381>
- 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. <https://doi.org/10.1002/pts.2063>
- Özkaya, Ş., Taydaş, E.E., Başaran, A., Avcı, B. & Hızlı, S. (1999). *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Ankara İl Kontrol Laboratuvarı Aflatoxin Analiz Kurs Notları*. 7-14 Ağustos, Ankara.
- Ravid, U. & Putievsky, E. (1983). Constituents of Essential Oils From *Majorana syriaca*, *Cordothymus capitatus* and *Satureja thymbra*. *Planta Medica* 49, 248-249. <https://doi.org/10.1055/s-2007-969862>
- 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. <https://doi.org/10.3109/15569541003598553>
- Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O. & Vismer, H.F. (2002). Production of Fumonisin Analogs by *Fusarium* Species. *Applied and Environmental Microbiology* 68, 2102-2105. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2101-2105.2002>
- Sertkaya, E., Kaya, K. & Soyly, S. (2010). Acaricidal Activities of the Essential Oils From Several Medicinal Plants Against The Carmine Spider Mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products* 31, 107-112. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.09.009>
- Smith, J.E. (2001). Mycotoxins, Food Chemical Safety. Volume 1: Contaminants, Ed.: Watson, D.H. *Woodhead Publishing Limited and CRC Pres, LLC*, 322p.
- Sokolic-Mihalak, D., Frece, J., Slavica, A., Delas, F., Pavlovic, H. & Markov, K. (2012). The Effects of Wild Thyme (*Thymus serpyllum* L.) Essential Oil Components Against Chratoxin-producing Aspergilli. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* 63, 457-462. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-63-2012-2309>
- 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. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00120-5)
- Souza, V.V.M.A., Almeida, J.M., Barbosa, L.N. & Silva, N.C.C. (2022). Citral, Carvacrol, Eugenol and Thymol: Antimicrobial Activity and Its Application In Food. *Journal of Essential Oil Research* (in press). <https://doi.org/10.1080/10412905.2022.2032422>
- Soyly, E.M., Kurt, S. & Soyly, 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. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.08.015>
- Soyly, E.M., Soyly, S. & Kurt, S. (2006). Antimicrobial Activities of the Essential Oils of Various Plants Against Tomato Late Blight Disease Agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia* 161, 119-128. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0206-z>
- Soyly, E.M., Soyly, S., Kara, M. & Kurt, Ş. (2020). Sebzelelerde Sorun Olan Önemli Bitki Fungal Hastalık Etmenlerine Karşı Vermikomposttan İzole Edilen Mikrobiyomların *in vitro* Antagonistik Etkilerinin Belirlenmesi. *KSU Tarım ve Doğa Dergisi* 23, 7-18. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.601936>
- Soyly, E.M., Tok, F.M., Soyly, S., Kaya, A.D. & Evrendilek, G.A. (2005). Antifungal Activities of the Essential Oils On Post-Harvest Disease Agent *Penicillium digitatum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 8, 25-29. <https://dx.doi.org/>

- 10.3923/pjbs.2005.25.29
- Soylu, S., Evrendilek, G.A. & Soylu, E.M. (2009). Chemical Compositions and Antibacterial Activities of Bitter Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*) and Dill (*Anethum graveolens* L.) Essential Oils Against The Growth Of Food-Borne And Seed-Borne Plant Pathogenic Bacteria. *Italian Journal of Food Science* 21, 347-355.
- Soylu, S., Kara, M., Toketti, O., Soylu, E.M., Uysal, A. & Kurt, Ş. (2021). Patates lastik çürüklük hastalık etmeni *Geotrichum candidum*'un izolasyonu, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi* 24, 353-361. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.714056>
- Soylu, S., Kara, M., Türkmen, M. & Şahin, B. (2022). Synergistic effect of *Foeniculum vulgare* essential oil on the antibacterial activities of Ag- and Cu-substituted ZnO nanorods (ZnO-NRs) against food, human and plant pathogenic bacterial disease agents. *Inorganic Chemistry Communications* 146, 110103. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2022.110103>
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soylu, E.M. & Kurt, S. (2007). Antifungal Effects of Essential Oils from Oregano and Fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology* 103, 1021-1030. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03310.x>
- Tripathi, P., Dubey, N.K. & Shukla, A.K. (2008). Use of Some Essential Oils as Post-Harvest Botanical Fungicides in the management of Grey Mould of Grapes Caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24, 39-46. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9435-2>
- Tsimogiannis, D., Choulitoudi, E., Bimpilas, A., Mitropoulou, G., Kourkoutas, Y. & Oreopoulou, V. (2017). Exploitation of The Biological Potential of *Satureja thymbra* Essential Oil and Distillation by Products. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 4, 12-20. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.07.002>
- Tyagi, A.K. & Malik, A. (2011). Antimicrobial Potential and Chemical Composition of *Eucalyptus globules* Oil in Liquid and Vapour Phase Against Food Spoilage Microorganisms. *Food Chemistry* 126, 228-235. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.002>
- Uyulaşer, V., Karaman, B. & Kazancı, Y.T. (2005). Mikotoksinler ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Hasad* 21, 43-48.
- Wang, H.W., Yang, Z.X., Ying, G.Y., Yang, M.H., Nian, Y.J., Wei, F. & Kong, W.J. (2018). Antifungal Evaluation of Plant Essential Oils and Their Major Components Against Toxigenic Fungi. *Industrial Crops and Products* 120, 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.053>
- Weidenbörner, M. (2014). Mycotoxins in Foodstuffs. *Springer Science & Business Media*, 739 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8727-2>
- Wien, H.C. (1997). Peppers. The Physiology of Vegetable Crops. *UK at The University Press*, Cambridge. <https://doi.org/10.1079/9781786393777.0179>
- Xu, S.X., Yan, F.J., Ni, Z.D., Chen, Q.R., Zhang, H. & Zheng, X.D. (2014). *In vitro* and *in vivo* Control of *Alternaria alternata* in Cherry Tomato by Essential Oil from *Laurus nobilis* of Chinese Origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 1403-1408. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6428>
- Yeğen, O., Berger, B. & Heitefuss, R. (1992). Investigations on the Fungitoxicity of Extracts of Six Selected Plants from Turkey against Phytopathogenic Fungi. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 99, 349-359.
- Yiannikouris, A. & Jouany, J.P. (2002). Mycotoxins in Feeds and Their Fate in Animals, A Review. *Animal Research* 51, 81-99. <https://doi.org/10.1051/animres:2002012>
- Yong, A.L., Ooh, K.F., Ong, H.C., Chai, T.T. & Wong, F.C. (2015). Investigation of Antibacterial Mechanism and Identification of Bacterial Protein Targets Mediated by Antibacterial Medicinal Plant Extracts. *Food Chemistry* 186, 32-36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.103>