

Bitki Uçucu Yağların Gri Küf Hastalığı Etmeni *Botrytis cinerea*'nın Misel Gelişimi, Konidi Çimlenmesi ve Hif Morfolojisi Üzerine Antifungal Etkileri

Fatih KÖSE¹, Emine Mine SOYLU²

¹Konya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Meram, Konya, TÜRKİYE, ²Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Antakya, Hatay, TÜRKİYE.

¹<https://orcid.org/0000-0003-3739-5248>, ²<https://orcid.org/0000-0001-5961-0848>

✉: msoylu@mku.edu.tr

ÖZET

Gri küf hastalığına neden olan *Botrytis cinerea* aralarında turunçgil meyvelerinde bulunduğu oldukça geniş konukçu dizisine sahip fungal bir hastalık etmenidir. Bu çalışmada farklı kekik türleri (*Origanum onites* L., *Origanum syriacum* Holm., *Thymbra spicata* L.) ve rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *Botrytis cinerea*'nın misel gelişimi, spor çimlenmesi ve hiflerinin morfolojik yapısı üzerine buhar fazında antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Uçucu yağlar arasında en yüksek antifungal etkinlik (% 100 engelleme) *O. onites* ve *O. syriacum* uçucu yağlarının 10 µg ml⁻¹ dozunda tespit edilmiş olup, bu uygulamaları 40 µg ml⁻¹ dozunda *T. spicata* ile nispeten daha yüksek dozda (120 µg ml⁻¹) kullanılan *F. vulgare* uçucu yağları takip etmiştir. Uçucu yağların misel gelişimini tamamen engelleyen dozlardaki etkinliğinin fungisidal özellikte olduğu belirlenmiştir. Test edilen uçucu yağların tamamı 10 µg ml⁻¹ dozda fungus konidilerin çimlenmesini tamamen engellemiştir. Yapılan taramalı ve ışık mikroskop çalışmalarında uçucu yağların minimum engelleme dozlarında fungus misel ve konidileri üzerinde vesikülleşme, sitoplazmalarında pıhtılaşma, hiflerde erime gibi ciddi bozulmalara neden olduğu gözlenmiştir. Mikroskop gözlem sonuçları uçucu yağlar tarafından gösterilen antifungal etkinliğin fungus misel ve konidilerinde neden olunan morfolojik bozulmalardan kaynaklandığını göstermiştir. Elde edilen sonuçlar özellikle kekik türlerine ait uçucu yağların depolanmış ürünlerde sorun olan fungal hastalıklarla mücadelede kimyasallara alternatif çevre dostu biyofungisit olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir.

Fitopatoloji

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 20.12.2022

Kabul Tarihi : 30.01.2023

Anahtar Kelimeler

Uçucu yağlar
Antifungal etkinlik
Turunçgil
Botrytis cinerea
Buhar fazı

Antifungal Effects of Essential Oils on Mycelial Growth, Conidia Germination and Morphology of Hyphae of Gray Mold Disease Agent *Botrytis cinerea*

ABSTRACT

Botrytis cinerea, which causes gray mold disease, is a fungal disease agent with a wide host range, including citrus fruits. In this study, antifungal effects of plant essential oils obtained from different thyme species (*Origanum onites* L., *Origanum syriacum* Holm., *Thymbra spicata* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) in vapor phase were investigated on mycelial growth, conidia germination and morphology of hyphae of *B. cinerea* *in vitro* conditions. Among the essential oils, the highest antifungal activity (100% inhibition) was detected at the dose of 10 µg mL⁻¹ of *O. onites* and *O. syriacum* essential oils, and these applications were followed by *T. spicata* at a dose of 40 µg mL⁻¹ and *F. vulgare* essential oil at a relatively higher dose (120 µg mL⁻¹) used. The effectiveness of essential oils at doses that completely inhibit mycelial growth were determined as fungicidal. All essential oils tested completely inhibited the germination of fungal conidia at the dose of 10 µg mL⁻¹. In scanning and light microscopy studies, it has been observed that essential oils cause serious deteriorations such as vesiculation, cytoplasmic coagulation and lysis on fungal mycelium and conidia at minimum inhibition concentrations determined. Microscope observation results

Plant Pathology

Research Article

Article History

Received : 20.12.2022

Accepted : 30.01.2023

Keywords

Essential oils
Antifungal activity
Citrus
Botrytis cinerea
Volatile phase

showed that the antifungal activities were due to the morphological deteriorations caused by the essential oils on the fungal hyphae and conidia. Overall results showed that essential oils of thyme species have the potential to be used as environmental friendly biofungicide alternative to chemicals against fungal diseases in stored products.

- Atf Şekli:** Köse, F., & Soylu, E.M., (2023). Bitki Uçucu Yağların Gri Küf Hastalığı Etmeni *Botrytis cinerea*'nın Misel Gelişimi, Konidi Çimlenmesi ve Hif Morfolojisi Üzerine Antifungal Etkileri. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* 26 (4), 815-826. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.1221681>
- To Cite :** Köse, F., & Soylu, E.M., (2023). Antifungal Effects of Essential Oils on Mycelial Growth, Conidia Germination and Morphology of Hyphae of Gray Mold Disease Agent *Botrytis cinerea*. *KSU J. Agric Nat* 26 (4), 815-826. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.a.vi.1221681>

GİRİŞ

Dünya genelinde 100 den fazla ülkede yetiştirilen turunçgiller en fazla üretimin yapıldığı meyve türlerinin başında gelir. Turunçgiller portakal, mandarin, grefurt, misket limonu ve limon gibi çeşitli türlerden oluşur (Ismail & Zhang, 2004). Narenciye tarımının uluslararası ekonomideki etkisi çok büyük olup, hasat, taşıma, nakliye ve depolama gibi üretim döngüsünde yer alan birçok sektöre katkısı oldukça fazladır. Dünya Gıda ve Tarım Örgütü FAO'nun 2020 yılı üretim verilerine göre dünya turunçgil üretiminde ilk sırada 37.7 milyon ton ile Çin yer alırken, bu ülkeyi sırasıyla 19.5 milyon ton ile Brezilya, 12.5 milyon ton ile Hindistan, 7.9 milyon ton ile Meksika, 7.2 milyon ton ile A.B.D, 5.9 milyon ton ile İspanya takip etmiştir. Türkiye turunçgil üretiminde 4.2 milyon ton üretim miktarı ile dünya genelinde yedinci sırada yer almıştır (Anonymous, 2020). Türkiye genelinde 2021 yılında turunçgil üretimi 5.3 milyon ton olup, bu üretimin yaklaşık 4 milyon tonu Akdeniz Bölgesi'nde gerçekleşmiştir (Anonim, 2021).

Yaş meyve ve sebzeler bol miktarda su ve besin maddesi içerdiklerinden dolayı fungus ve bakteri kökenli patojenlerin saldırılarına sık sık maruz kalırlar. Enfekteli ürünlerde etilen sentezi, solunum ve ısı üretimindeki artış olgunlaşmayı hızlandırdığı için ürünün direnci azalır ve ürünlerin sekonder enfeksiyonlara karşı duyarlılığını artırır (Benli, 2003). Hasat sonrası ortaya çıkan fungal ve bakteriyel kökenli hastalıklar taze meyvelerin, depo ömrünü azaltan başlıca sorunlardan biridir (Prusky, 2011). Hasatsonu fungal hastalık etmenleri paketlenen evlerinde, depolarda ve taşıma aşamalarında Türkiye'nin önemli ihraç ürünlerinden biri olan turunçgil meyvelerinde çürümelere neden olmak suretiyle oldukça ciddi ürün kayıplarına neden olurlar. Söz konusu hastalık etmenleri bu tür ürünlerde ortaya çıktıklarında % 30'lara varan miktarlarda ekonomik zararlara neden olurken, hastalığın gelişimi için uygun iklim koşullarında yoğun olarak ortaya çıktığı durumlarda bu kayıpların %50'leri aştığı bildirilmiştir (Kaplan & Dave, 1979; Salunkhe & Desai, 1984; Wilson & Pusey, 1985; Açar, 1987; Cohen, 1989; Wilson ve ark., 1994).

Botrytis cinerea, *Penicillium* spp., *Alternaria* spp.,

Geotrichum spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Stemphylium* spp., *Aspergillus* spp., ve *Cladosporium* spp. ait fungal türler meyve ve sebzelerin depolanmaları sırasında önemli zararlara sebep olan türlerin başında gelir. Söz konusu etmenlerden bazıları sanitasyon kurallarının uygulanmadığı depolarda ve paketlenen evlerinde hasat edilmiş sebze ve meyvelerde çürümelerin yanı sıra ürünlerde mikotoksin birikimine neden olurlar (Maldonado ve ark., 2009; Saito ve ark., 2016; Saito & Xiao, 2017a,b; Atay & Soylu, 2022; Jayasekara ve ark., 2022; Uysal ve ark., 2022). Farklı meyve ve sebze türlerini kapsayan oldukça geniş konukçu dizilimine sahip olan hastalık etmeni uygun çevre ortamlarında turunçgil meyvelerinde primer enfeksiyona neden olduğu gibi, sekonder enfeksiyon kaynağı olarak ürün kayıplarına neden olabilmektedir (Rosslénbroich & Stuebler, 2000). Meyve paketlenen evlerinde yapılan rutin sürvey çalışmalarında hastalık etmenin turunçgil meyvelerinde öne çıkan ilk altı hastalık etmenleri arasında yer aldığı bildirilmiştir (Saito & Xiao, 2017b). Diğer turunçgil çeşitlerine göre depolanmış limon ve mandarin meyveleri genellikle daha duyarlıdır (Anonymous, 2022). Turunçgil meyvelerinin kabuklarında yumuşak çürümelere başlayan belirtiler daha sonra kahverengileştikten sonra ilerleyen dönemlerde siyahlaşarak nekrotik bir hal alır. Kararmış dokular üzerinde kurşuni renkte yoğun sporulasyon ve misel gelişimi şeklinde hastalık etmenine özgü belirtiler ortaya çıkar.

Hasat sonu hastalık etmenleri uygun olmayan depolanma koşullarında konukçuları üzerinde hızla gelişerek spor oluştururlar. Ürünler üzerinde ortaya çıkan yoğun sporulasyon patojenin buldukları ortamda hızlı yayılmasına neden olurken, üreticileri hastalıkla mücadele kapsamında kimyasal fungusitleri uygulamaya yönlendirir. Depolanmış ürün hastalıkları ile mücadelede bilinçsiz şekilde ve yoğun olarak kullanılan fungusit uygulamaları ürün üzerinde kalıntıya neden olduğu gibi, çevredeki faydalı organizmalara ve insan sağlığına ciddi zararlara neden olurlar. Yüksek dozda ve sıklıkta fungusit uygulamaları hasat sonu hastalık etmeni türlerde fungusitlere dayanıklı yeni ırk/izolatların ortaya çıkmasına neden olur (Pappas, 1982). Dünyanın birçok ülkesinde olduğu gibi, Türkiye'de fungusitlere karşı

patojenlerde dayanıklılık gelişiminin belirlenmesi üzerine yapılmış araştırmalarda yeşil küf hastalık etmeni *P. digitatum*'un yaygın kullanılan fungusitlerden thiabendazole, benomyl ve imazalil'e karşı dayanıklı izolatlarının ortaya çıktığı bildirilmiştir (Wild & Eckert, 1982; Kelly & Austin, 1985; Dave & ark., 1990; Stange & Eckert, 1994; Delen & Tosun, 1995; Özbek & Delen, 1995; Toker & Biçici, 1996). Turunçgil meyvelerin yanı sıra *B. cinerea* izolatlarının farklı konukçularda kullanılan benomyl, azoxystrobin, dicarboximidlere, thiabendazole, pyrimethanile ve procymidone etki maddeli fungusitlere karşı dayanıklı izolat/ırklara sahip olduğu bildirilmiştir (Dianez ve ark., 2002; Myresiotis ve ark., 2007; Saito & Xiao, 2018).

Kimyasal pestisitlerin insan sağlığına, doğal çevreye ve faydalı mikroorganizmalar üzerine olan olumsuzlukları araştırmacıları depolanmış ürünlerde hasat sonrası görülen hastalıklarla kimyasal mücadeleye alternatif yeni, doğal çevre dostu mücadele yöntemlerini araştırmaya zorlamıştır. Bilim insanları, bu kapsamda çevreye ve insan sağlığına dost, kalıntı problemi oluşturmayan, antimikrobiyal etkinliğe sahip tıbbi ve aromatik bitki uçucu yağ ve ekstraktlarının hastalıklarla mücadelede kullanım olanaklarını araştıran çalışmalara yönelmişlerdir (Abbey ve ark., 2019; Bazioli ve ark., 2019; Atay & Soylu, 2023). Yapılan literatür çalışmalarında lavanta, biberiye, origanum, karanfil, hardal, nane, limon otu, portakal ve limon gibi farklı türlere ait bitki uçucu yağların farklı sebze ve meyvelerde hasat sonrası gri küf hastalık etmenine karşı güçlü antifungal etkiye sahip olduğu bildirilmiş olup (Bouchra ve ark., 2003; Soylu ve ark., 2010; Aguilar-González ve ark., 2015; Mbili ve ark., 2017; de Oliveira Filho ve ark., 2021; Jafarzadeh ve ark., 2021; Amiri ve ark., 2022) turunçgil meyvelerinde hasat sonrası sorun olan hastalık etmeni *B. cinerea*'ya karşı yapılmış her hangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada Hatay ilinde doğal olarak yetişen bazı kekik türlerinin (ak kekik, *Origanum onites* L.; Suriye kekiği, *Origanum syriacum* Holm.; karabaş kekik *Thymbra spicata* L.) yaprakları ile rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) tohumlarından buhar distilasyon yöntemi ile elde edilmiş bitki uçucu yağlarının depolanmış turunçgil meyvelerinden izole edilmiş *Botrytis cinerea*'nın misel gelişimi ve spor çimlenmelerinin engellenmesi üzerine uçucu fazda antifungal etkinlikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOD

Fungal Hastalık Etmeninin, İzolasyon ve Tanınması
Çalışmada kullanılan *Botrytis cinerea* izolatı Hatay ili Erzin ilçesinde yer alan paketlenme evlerindeki tipik hastalık belirtileri gösteren limon meyvelerinden izole edilmiştir (Şekil 1). Hastalık etmeni ışık mikroskobu

altında önceden bildirilen morfolojik özelliklerine göre tanımlanmıştır. *In vitro* etkinlik çalışmalarında kullanılan patojenin tek spordan elde edilmiş saf izolatı (*B. cinerea* MKUBc11) Patates Sukroz Agar (PDA, Merck, Damstradt, Germany) besi yerinde 4 °C muhafaza edilmiştir. İzolatın patojenitesi sağlıklı limon meyvesi üzerine inoküle edilerek doğrulanmıştır.



Şekil 1. *Botrytis cinerea* MKUBc11 izolatının depo koşullarında limon meyvesinde oluşturduğu hastalık belirtileri.

Figure 1. Disease symptoms caused by the *Botrytis cinerea* MKUBc11 isolate on lemon fruit in storage conditions.

Bitki Materyali ve Uçucu Yağların Elde Edilmesi

Çalışmada kullanılan bitki türleri (Çizelge 1) Hatay iline ait farklı ilçelerde doğal olarak yetişen popülasyonlardan toplanmıştır. Uçucu yağlar *Origanum onites*, *Thymbra spicata* ve *Origanum syriacum* bitkilerinin yapraklarından (Şekil 2A,B,C), *Foeniculum vulgare* bitkisinin ise tohumlarından (Şekil 2D) Clevenger tipi alet ile 3 saatlik buhar distilasyonu ile elde edilmiştir (Soylu ve ark., 2010). Tüm bitki materyalleri morfolojik özelliklerine göre Prof. Dr. İlhan Üremiş (Mustafa Kemal Üniversitesi, Bitki Koruma Bölümü, Hatay) tarafından doğrulanmıştır. Çalışmalarda kullanılan uçucu yağlar anhydrous sodium sulphate içeren koyu renkli vida kapaklı cam şişelerde +4°C' de muhafaza edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan her bitki türüne ait herbaryum örnekleri Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bitki Sağlığı Kliniği Herbaryum Merkezinde (MKUBİSAKTsp21, MKUBİSAKOon07, MKUBİSAKOsy11, MKUBİSAKFv2) muhafaza edilmiştir.

Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Fazında Misel Gelişimi Üzerine Etkinliğinin Belirlenmesi

Uçucu yağların buhar fazında misel gelişiminin engellenmesi üzerine etkinliği Patates Dekstroz Agar

(PDA) besi yeri içeren steril petri kaplarında (9 cm çapında) belirlenmiştir (Kara ve ark., 2020). İlk olarak fungus izolatının 5 günlük kültüründen alınan misel diskleri (10 mm) PDA ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Aktarılan petrilerin kapaklarının iç yüzeylerine uçucu yağların 0-120 µg/ml konsantrasyonları damlatılmıştır. Petri kapakların etrafı parafilm ile sarıldıktan sonra inkübatörlere (22° C'de) yerleştirilmiştir. Kontrol olarak Petri kapaklarına steril saf su damlatılmıştır. Kontrol olarak kullanılan petrilerde fungus misellerinin tamamen petri yüzeyini kaplaması ile tüm dozlarda koloni gelişim çapları ölçülmüştür. Her konsantrasyon için 3 petri kabı kullanılmıştır. Ortalama misel gelişim değerleri elde edildikten sonra misel gelişiminin engellenme yüzdesi Abbot formülü [MGI (%) = ((dc-dt)/dc) x 100, dc ve dt, sırasıyla kontrol ve uygulama

yapılmış Petri kaplarındaki misel büyüme çapını temsil eder] kullanılarak kontrol petrilerdeki misel çaplarına kıyaslanmak suretiyle hesaplanmıştır. Çalışmalar iki farklı zamanda tekrarlanmıştır.

Uçucu yağların minimum engellenme dozunun (MIC) buhar fazında misel gelişiminin engellenmesi üzerine fungisidal/fungistatik özelliği daha önceden bildirilen yöntemlere göre belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2010). Misel gelişiminin tamamen engellendiği petrilerin kapaklar steril yeni petri kapaklarıyla değiştirilip 5 gün süreyle tekrar inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda misel gelişiminin görülmediği petrilerde uçucu yağın MIC değerinin fungisidal olduğu, misel gelişiminin yeniden başladığı MIC değerlerinin ise fungistatik olduğuna karar verilmiştir (Atay & Soylu, 2023).

Çizelge 1. Çalışmada uçucu yağları kullanılan bitkiler
Table 1. Plants containing volatile oils used in this study

Yöresel Adı	Bilimsel Adı	Familiya	Toplandığı Yer
Ak kekik	<i>Origanum onites</i> L.	Lamiaceae	Yayladağ/Hatay
Suriye kekiği	<i>Origanum syriacum</i> Holm.	Lamiaceae	Samandağ/Hatay
Karabaş kekik	<i>Thymbra spicata</i> L.	Lamiaceae	Arsuz / Hatay
Rezene	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Umbelliferae	Aktar



Şekil 2. Çalışmalarda uçucu yağları kullanılan bitkiler. Doğal ortamlarda yetişen (A) Ak kekik (*Origanum onites*), (B) Suriye kekiği (*Origanum syriacum*), (C) Karabaş kekik (*Thymbra spicata*) bitkileri ve (D) Rezene (*Foeniculum vulgare*) tohumları.

Figure 2. Plants with volatile oils used in the studies. (A) white thyme (*Origanum onites*), (B) Syrian thyme (*Origanum syriacum*), (C) Karabas thyme (*Thymbra spicata*) plants and (D) fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds, grown in natural environments.

Konidi Çimlenmesi Üzerine Bitki Uçucu Yağlarının Buhar Etkilerinin Belirlenmesi

Uçucu yağların buhar fazında *B. cinerea* konidilerinin çimlenmesi üzerine antifungal etkileri PDA besi ortamı içeren 9 cm çapındaki steril petri kaplarında belirlenmiştir (Soylu ve ark., 2010). Ortam katılaştıktan sonra *B. cinerea*'nin 5 günlük kültüründen hazırlanan konidi süspansiyonu 10^4 spor ml^{-1} konsantrasyonuna ayarlandıktan sonra PDA içeren petri kaplarının yüzeylerine yayılmıştır. Farklı uçucu yağ konsantrasyonları petri kapağına damlatıldıktan sonra petri kapakları parafilm ile sarılarak inkübatörlere (22 °C'de) yerleştirilmiştir. Kontrol olarak petri kapaklarına uçucu yağ yerine steril distile su damlatılmıştır. Konidilerin çimlenme değerlendirmeleri uçucu yağın petrolere eklenmesinden 18 saat sonra Işık Mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) altında yapılmıştır. Uygulamalardaki konidilerin çimlenme borusu uzunluğunun konidi çapını aşması durumunda konidiler çimlenmiş (canlı) olarak kabul edilmiştir. Konidilerin çimlenme yüzdesi (her uygulama dozu üç tekrerrür olarak, her uygulamada minimum 100 spor sayılmıştır) kayıt edilmiştir. Konidi çimlenmesinin engellenme yüzdesi Abbot formülü $[KGI (\%) = ((KGc - KGt)/KGc) \times 100]$, KGc ve KGt, sırasıyla kontrol ve uçucu yağ uygulaması yapılmış Petrilerde çimlenen konidi sayısını temsil eder] kullanılarak kontrol Petrilerdeki konidi çimlenme sayılarına kıyaslanmak suretiyle hesaplanmıştır (Soylu ve ark., 2010). Çimlenmenin tamamen engellendiği petrilerin kapakları misel etkinlik çalışmalarında bildirildiği gibi yeni steril petri kapaklarıyla değiştirilmek suretiyle konidi çimlenmesini engelleyen MIC değerlerinin fungisidal/fungistatik etkinliği belirlenmiştir. Çimlenmenin gözlenmediği petrilerde uçucu yağların konidi ve hifler üzerinde neden olduğu morfolojik değişiklikler Nomarski DIC ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) kullanılarak incelenmiştir. Çalışmalar iki farklı zamanda tekrarlanmıştır.

Bitki Uçucu Yağlarının Fungus Hifleri Üzerinde Neden Olduğu Morfolojik Değişime Etkisinin Belirlenmesi

Uçucu yağların buhar fazında konidi ve hif morfolojisi üzerinde antifungal etkisinin belirlenmesi için, 5 günlük fungus kültüründen hazırlanan spor süspansiyonunun konsantrasyonu 10^3 spor ml^{-1} ayarlanıp ince tabaka halinde PDA içeren (10 ml petri¹) petri kaplarına yayıldıktan sonra 22°C'de 2-3 gün ön inkübasyona bırakılmıştır. Ön inkübasyonun ardından petri kapaklarının iç yüzeyine *in vitro* çalışmalarda minimum engellemeyi sağlayan uçucu yağ konsantrasyonları (MIC) damlatılmış ve tüm petriler parafilmle kapatıldıktan sonra 22°C'de 3 gün

inkübasyona bırakılmıştır. Çimlenmiş sporları ve hifleri içeren agar bloklarının (3-4 cm²) ince katmanları (1 mm) ışık mikroskobu ile incelenmek üzere birer gün arayla preparatları %50 gliserol içerisinde hazırlanmış ve Nomarski-DIC ataçmanlı ışık mikroskobu (Olympus BX51, Tokyo, Japonya) kullanılarak incelenmiştir (Soylu ve ark., 2010).

Uçucu yağların fungus hiflerinin morfolojisi üzerindeki uçucu faz etkisinin taramalı elektron mikroskobu altında belirlenmesi için, 7 günlük fungus kültüründen misel içeren PDA diski ilk olarak petri kabının merkezine yerleştirildikten sonra 22°C'de 2 gün ön inkübasyona bırakılmıştır. Ön inkübasyonun ardından, *in vitro* çalışmalarda minimum engellemeyi sağlayan uçucu yağ konsantrasyonları (MIC) petri kapaklarının iç yüzeylerine damlatılmış ve tüm petriler parafilmle kapatıldıktan sonra 22°C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Misel içeren Agar diskleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) gözlemleri için önce % 2.5' lik glüteraldehit içinde 2 saat süre ile fiksasyona tabi tutulduktan sonra seri sulandırılmış etanol (%70, 80, 90, 100) içerisinde her birinde 30 dak. aralıklarla bekletilmek suretiyle dehidrasyona bırakılmıştır. Dehidrasyon görmüş Agar disk örnekleri daha sonra kritik nokta kurutucusu (Polaron CPD 7501, UK) ile kurutulmuştur. Kurutulan Agar diskleri çift taraflı karbon yapıştırıcılı bantlar ile örnek tablası (stab) üzerine yerleştirildikten sonra Sputter Coater'da (Polaron SC7620, UK) altın/palladium ile 9 mA akımda 150 saniye tutulmak suretiyle kaplanmıştır. Uygulama görmüş Agar diskleri JEOL JSM 5500 SEM altında 5 kV akımda incelenmiştir (Soylu ve ark., 2010).

Deneme Deseni ve İstatistik Analizler

Uçucu yağların misel gelişimi ve konidi çimlenmesi üzerine etkinliklerinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Misel gelişimi üzerine etkinlik çalışmasında her konsantrasyon 3 Petri kabında, konidi çimlenmesi denemesinde her konsantrasyon 3 tekrerrür, her tekrerrür için 100 spor sayılarak belirlenmiştir. Tüm denemeler 2 kez tekrar edilmiştir. Uygulamaların misel gelişimi ve spor çimlenmesi üzerine olan etkinlikleri SPSS Statistics 17.0 programı (SPSS Inc.) kullanılarak tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabii tutulmuş, uygulamalar arasındaki farklılıklar ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ($p \leq 0.05$) ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmalarda kullanılan *O. onites*, *O. syriacum*, *T. spicata* ve *F. vulgare* gibi farklı bitki türlerine ait uçucu yağların farklı konsantrasyonlarının *B.cinerea*'nin misel gelişimi üzerine buhar fazındaki antifungal etkinlikleri Şekil 3 de gösterilmiş olup,

misel gelişimini % engelleme oranları Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2'de sunulan sonuçlara göre *B. cinerea*'nın misel gelişiminin engellenmesi üzerine en yüksek antifungal etkinlik *O. onites* (ak kekik) ve *O. syriacum* (Suriye kekiği) bitki uçucu yağları tarafından gösterilmiş olup, bu uygulamaları *T. spicata* (karabaş kekiği) ve nispeten yüksek konsantrasyonun

kullanıldığı *F. vulgare* (rezene) bitkilerinden elde edilen uçucu yağlar izlemiştir. *B. cinerea*'nın misel gelişimini tamamen durduran minimum engelleme konsantrasyonları (MIC) *O. onites* ve *O. syriacum* uçucu yağı için 10 µg/ml olarak belirlenirken, *T. spicata* uçucu yağı için MIC'nun 40 µg/ml, *F. vulgare* uçucu yağı için ise MIC'nun 120 µg/ml olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2 *B. cinerea*'nın misel gelişiminin engellenmesi (%) üzerine uçucu yağların buhar fazında antifungal etkileri

Table 2 Antifungal effects of essential oils in the vapor phase on inhibition of mycelial growth (%) of *B. cinerea*

Dozlar (µg ml ⁻¹)	Uçucu Yağlar ve misel gelişiminin % engellenme oranları*			
	Ak kekik <i>O. onites</i>	Suriye kekiği <i>O. syriacum</i>	Karabaş kekiği <i>T. spicata</i>	Rezene <i>F. vulgare</i>
0.0	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
10.0	100.0 ^b	100.0 ^b	0.0 ^a	0.0 ^a
20.0	nt	nt	5.5 ^b	0.0 ^a
40.0	nt	nt	100.0 ^c	32.0 ^b
80.0	nt	nt	nt	62.0 ^c
120.0	nt	nt	nt	100.0 ^d

nt: bu dozlarda denenmemiştir.

*: Sütun içerisinde verilen ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($p \leq 0.05$).

Uçucu yağların MIC değerlerine maruz kalmış misel gelişiminin tamamen engellendiği petrilerin kapakları yenileri ile değiştirilip tekrar inkübasyona bırakıldığında petrilerin hiç birinde misel gelişiminin gözlenmediği tespit edilmiştir. Bu gözlem sonuçlarına göre uçucu yağların misel gelişimini tamamen durduran MIC değerlerinin fungisidal özellikte olduğunu göstermiştir.

B. cinerea'nın spor çimlenmesinin engellenmesi üzerine bitki uçucu yağlarının buhar fazındaki etkilerinin belirlendiği çalışmalardan elde edilen sonuçlar Çizelge 3'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ak kekik, Suriye kekiği, karabaş kekiği ve rezene uçucu yağlarının *B. cinerea* sporlarını 10 µg/ml konsantrasyonunda tamamen engellediği belirlenmiştir.

Bitki uçucu yağlarının sahip oldukları farklı bileşiklerinin bitki patojeni fungal hastalıklara karşı antifungal etkinliğe sahip olduğu çok geçmiş yıllardan beri bilinmektedir (Isman, 2000; Burt, 2004). Bazı

bitki uçucu yağların fungusitlere dayanıklı bitki patojenlere karşı oldukça etkili olduğu yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla ortaya konulmuştur (Vaughn & Spencer 1994; Kara ve ark., 2022a). Turunçgillerde hasat sonrası fungal hastalık etmenleri arasında uçucu yağların antifungal etkinliklerinin belirlenmesine yönelik çalışmaların genelde yaygın fungal türlerden *P. digitatum*, *P. italicum*, ve *G. citri-aurantii*'ye karşı araştırılmıştır (Vitoratos ve ark., 2013; Bazioli ve ark., 2019).

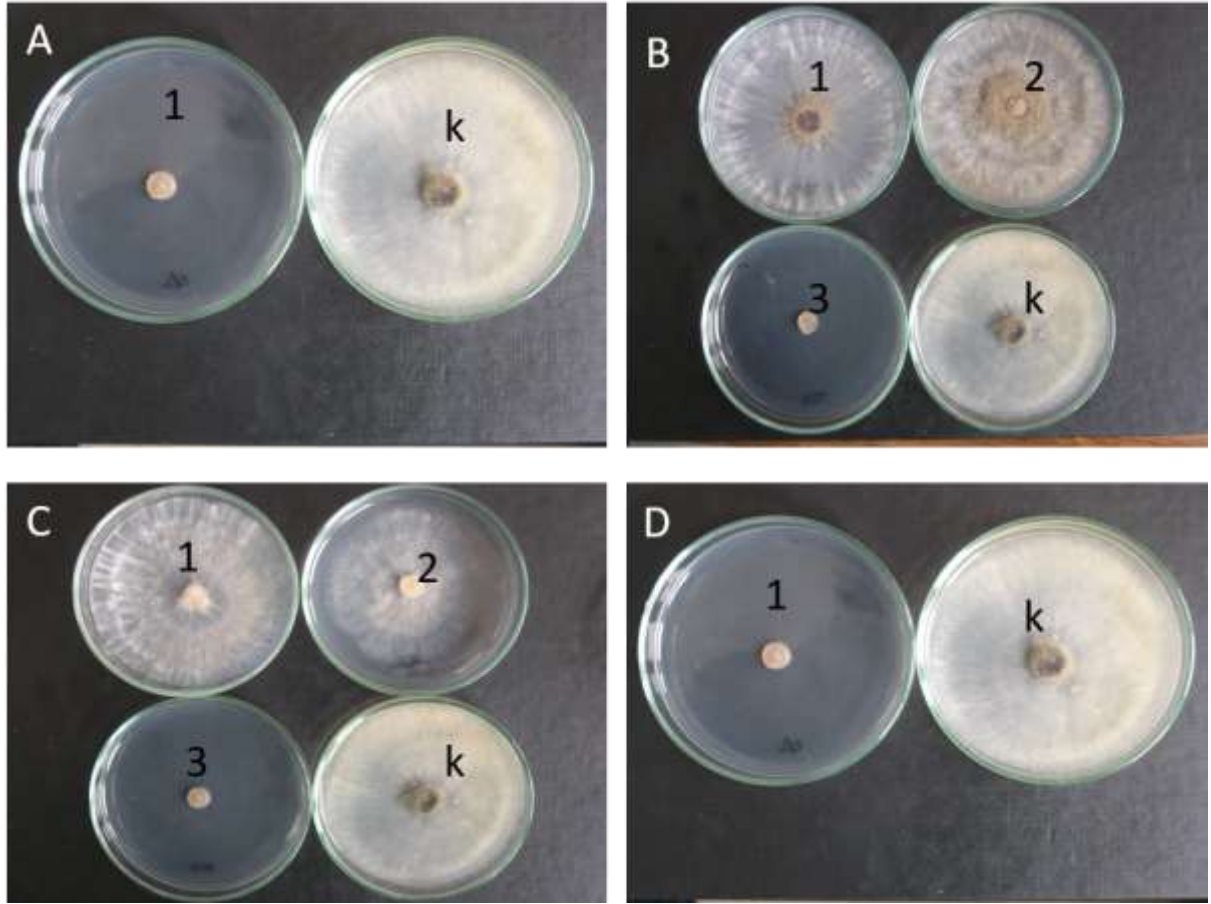
Çalışmalarda kullanılan *O. onites*, *T. spicata*, *O. syriacum* ve *F. vulgare* bitki uçucu yağlarının antifungal etkinlikleri farklı bitki patojeni fungal hastalık etmenlerine karşı bildirilmiş olup, rezene uçucu yağı dışında (Camele ve ark., 2010) kalan *O. onites*, *T. spicata*, *O. syriacum* uçucu yağlarının turunçgil meyvelerinde hasat sonrası hastalık etmeni *B. cinerea*'ya karşı antifungal etkinliklerinin belirlendiği bir başka çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çizelge 3. Farklı bitki uçucu yağların buhar fazında *B. cinerea*'nın spor çimlenmesinin engellenmesi üzerine antifungal etkisi (%)

Table 3. Antifungal effect of different plant essential oils on the inhibition of spore germination (%) of *B. cinerea* in the vapor phase

Dozlar (µg ml ⁻¹)	Uçucu Yağlar ve spor çimlenmesinin % engellenme oranları*			
	Ak kekik <i>O. onites</i>	Suriye kekiği <i>O. syriacum</i>	Karabaş kekiği <i>T. spicata</i>	Rezene <i>F. vulgare</i>
0.0	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a
10.0	100.0 ^b	100.0 ^b	100.0 ^a	100.0 ^a

*: Sütun içerisinde verilen ortalama değerlerin yanındaki farklı harfler uygulamalar arasındaki farkın Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine göre istatistiksel olarak önemli olduğunu gösterir ($p \leq 0.05$).



Şekil 3. Uçucu yağların *B.cinerea*'nın misel gelişimi üzerine buhar etkileri. (A) Ak kekik (*O. onites*) uçucu yağının 10 µg/ml konsantrasyonda (B) Karabaş kekik (*T. spicata*) uçucu yağının 40 µg/ml konsantrasyonda (C) Rezene (*F. vulgare*) uçucu yağının 120 µg/ml konsantrasyonda (D) Suriye kekiği (*O. syriacum*) uçucu yağının 10 µg/ml konsantrasyonda *B. cinerea*'ya karşı buhar fazındaki antifungal etkinlikleri. **k**, Kontrol petriyi gösterir.

Figure 3. Antifungal effects of essential oils on mycelial growth of *B.cinerea* in the vapor phase. Vapor phase antifungal activities of essential oils of (A) white thyme (*O. onites*) at 10 µg/ml concentration (B) thyme (*T. spicata*) at 40 µg/ml concentration (C) fennel (*F. vulgare*) at 120 µg/ml concentration (D) Syrian thyme (*O. syriacum*) at a concentration of 10 µg/ml. **k** indicates Control petri plate.

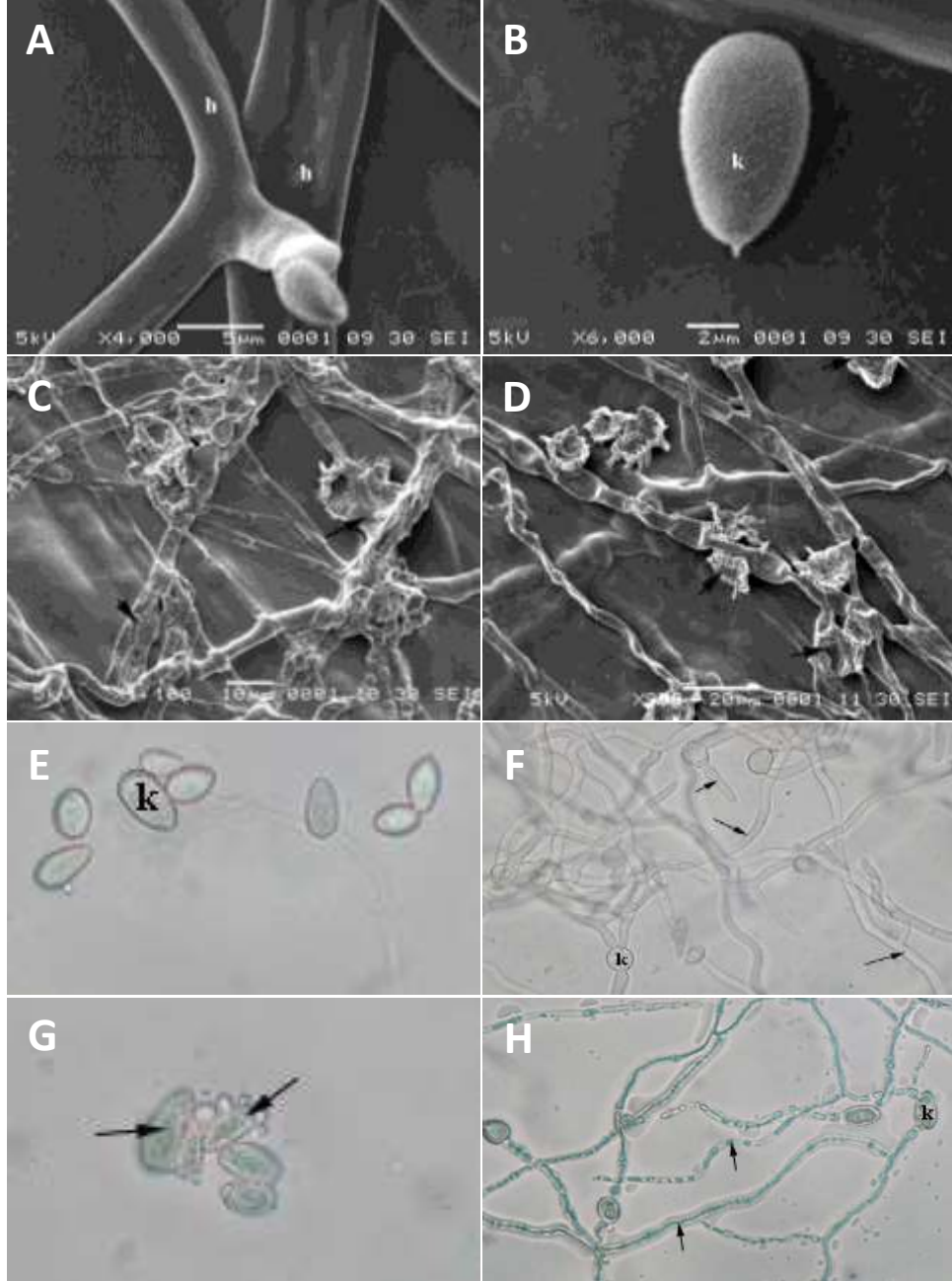
Camele ve ark. (2010) Akdeniz bölgesinde yetişen, Lamiaceae, Verbenaceae ve Apiaceae familyasına ait aralarında rezene bitkisinde bulunduğu uçucu yağları turuncgil meyvelerinde hasat sonrası meyve çürüklüğüne neden olan gri küf (*B. cinerea*), mavi küf (*Penicillium italicum*), kahverengi çürüklük (*Phytophthora citrophthora*) ve yaş çürüklük (*Rhizopus stolonifer*) hastalık etmenlerine karşı antifungal etkinliklerini araştırdıkları çalışmalarında, test edilen 12 farklı uçucu yağ içinden sadece *Verbena officinalis*, *O. vulgare* ve *Thymus vulgaris* uçucu yağlarının *in vitro* koşullarda fungistatik etkinlik gösterdiğini belirlemişlerdir. *In vivo* çalışmalarda ise *T. vulgaris* uçucu yağının 2.000 ppm dozunda *B. cinerea*, *P. citrophthora* ve *R. stolonifera* oldukça etkili olurken *P. italicum*'a karşı etkinlik göstermediğini bildirmişlerdir. Kara ve ark. (2022b) farklı *Origanum* spp. Elde edilen bitki uçucu yağların Trabzon hurması meyvelerinde hasatsonu hastalık etmeni *B. cinerea*'ya

karşı buhar fazında yüksek düzeylerde antifungal etkinliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Test edilen uçucu yağlar arasında özellikle *O. syriacum*, *O. vulgare*, *O. onites* ve *O. minutiflorum*'dan elde edilen karvakrol ve timol açısından zengin uçucu yağlar tarafından sergilenen güçlü antifungal etkinliğin, hasat sonrası hastalık etmenlerine karşı biyo-fungisit olarak geliştirmek için uygun olabileceğini önermişlerdir.

Daha önceden yapılmış çalışmalarda kullanılan bitki uçucu yağlardan *O. syriacum*'un domatestte sorun gri küf hastalık etmeni *B. cinerea*'ya karşı yüksek düzeyde antifungal etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2010). Benzer şekilde *O. onites* (Altintas ve ark., 2013; Kahramanoğlu ve ark., 2022) ve *F. vulgare* (Hadian ve ark., 2008; Abdolahi ve ark., 2010; Yılmaz ve ark., 2016; Wodnicka ve ark., 2019) uçucu yağlarının değme ve buhar fazında farklı meyve ve sebzelerde sorun olarak bildirilen farklı

türlere ait depo hastalık etmenlerinin yanısıra *B. cinerea*'ya karşı değişen dozlarda antifungal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. Söz konusu çalışmalarda da elde edilen sonuçları destekler şekilde rezene uçucu

yağının *Thymus* spp., *Thymbra* spp, ve *Origanum* ssp. ait bitki uçucu yağlarına kıyasla *B. cinerea* karşı daha düşük düzeylerde antifungal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir.



Şekil 4. *O. onites* uçucu yağının MIC değerinde *B. cinerea* konidi ve hifleri üzerinde neden olduğu morfolojik deformasyonların taramalı elektron (SEM) (A-D) ve ışık mikroskobu (E-H) altındaki görüntüleri. (A ve B), Kontrol petriyelerindeki sağlıklı *B. cinerea* hif ve konidisi. (C ve D) Uçucu yağ eklendikten 1 gün sonra, *B. cinerea* hiflerinde büzüşme ve erimeler şeklinde görülen (ok) yapısal bozukluklar. Benzer uygulamalar ışık mikroskobu altında incelendiğinde sağlıklı konidi ve hiflere (E ve F) kıyasla konidi (G) ve çimlenen konidilerden gelişen hiflerde (H) sitoplazmik koagülasyon (ok) şeklinde ortaya çıkan belirtiler. **h** = hif; **k** = konidi.

Figure 4. Morphological deformations caused by *O.onites* essential oil at MIC value on *B. cinerea* conidia and hyphae. under scanning electron (SEM) (A-D) and light (E-H) microscopes. (A and B) Appearance of healthy hyphae and conidia of *B. cinerea* in control plates. (C and D) Morphological deformations and lysis (arrow) on the hyphal surface 1 day after the addition of essential oil. Formations of cytoplasmic coagulation (arrow) in conidia (G) and hyphae developed from germinating conidia (H) compared to healthy conidia and hyphae (E and F) under the light microscope. **h** = hyphae; **k** = conidia

Bitki uçucu yağlarının fungal etmenin misel ve konidileri üzerinde sebep olduğu morfolojik deformasyonlar taramalı elektron (SEM) ve ışık mikroskopları altında incelenmiştir. Yapılan gözlemlerde *O. onites* uçucu yağının buhar fazında belirlenen MIC değerinde ($10 \mu\text{g ml}^{-1}$) *B. cinerea*'nın misel ve konidileri üzerinde ciddi morfolojik deformasyonlara sebep olmuştur. *O. onites* uçucu yağı ile muamele edilmiş petrillerdeki hifler ve konidilerin morfolojik yapıları (Şekil 4C,D,G,H) kontrol olarak kullanılan petrillerdeki sağlıklı konidi ve konidilerden gelişen hiflerin morfolojik yapıları (Şekil 4A,B,E,F) ile karşılaştırıldığında, fungus konidileri ve bu konidilerden gelişen hiflerinin yüzeyleri ve sitoplazmik içeriğinde pıhtılaşma (koagülasyon), büzüşmeler, hiflerde kısmi erimeler şeklinde karakterize edilmiş yapısal bozulmalar (Şekil 4 C,D,G,H) gözlenmiştir.

Uçucu yağların ana bileşenlerinin lipofilik özellikleri, uçucu yağın mikroorganizmaların plazma zarına nüfuz etmesine de yardımcı olur (Knobloch ve ark., 1989; Zambonelli ve ark., 1996; Szczerbanik ve ark., 2007). Çalışmalarda ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan gözlem sonuçları, tıbbi özelliğe sahip bitki uçucu yağlarının fungal etmenlerin hiflerinde morfolojik değişikliklere neden olduğu önceki çalışma sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. Çalışmalarda antifungal etkinlik gösteren bitkilerin yansıra farklı türlerinden elde edilen uçucu yağlarının farklı konukçu bitkilerde sorun olan *Penicillium digitatum* (Arras & Usai, 2001), *Sclerotinia sclerotiorum* (Soylu ve ark., 2007), *Phytophthora infestans* (Soylu ve ark., 2006) *B. cinerea* (Soylu ve ark., 2010), *Alternaria alternata* (Perina ve ark., 2015; Soylu & Köse, 2015), *Alternaria alternata* ve *Aspergillus niger* (Atay & Soylu, 2023) gibi hastalık etmenlerin hif ve konidilerinde şiddetli organel deformasyonları, hiflerde erimeler, sitoplazmik koagülasyon gibi benzer bozulmalara neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer etkinlikler *Thymus* spp. tarafından *Aspergillus niger* (Rasooli ve ark., 2006), kekik uçucu yağı tarafından *Geotrichum candida* (Liu ve ark., 2009) etmenlerinin miselleri üzerinde de kayıt edilmiştir. Kadife çiçeği uçucu yağının yüksek düzeyde antifungal etkinlik gösterdiği gri küf hastalık etmeni *Botrytis cinerea* ve yeşil küf hastalık etmeni *P. digitatum*'un hifleri üzerinde çok yönlü etki mekanizmaları kullanmak suretiyle ciddi morfolojik değişikliklere sebep olduğu elektron mikroskobu ile yapılan gözlemlerle ortaya konulmuştur (Romagnoli ve ark., 2005).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Elde edilen sonuçlar, farklı bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların hasat sonrası turunçgil meyvelerinde sorun olan gri küf hastalık etmeni *B. cinerea*'nın misel gelişimi ve konidi çimlenmesinin

engellenmesi üzerine antifungal etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Uygulamalar arasında özellikle *O. onites*, *O. syriacum* ve *T. spicata* gibi kekik türlerine ait uçucu yağların rezene uçucu yağına kıyasla daha yüksek antifungal etkinlik göstermiştir. Denemelerde kullanılan 4 farklı uçucu yağın en düşük engelleme dozlarında (MIC) gösterdiği antifungal etkinliğin fungisidal özellikte olduğu görülmüştür. En düşük engelleme dozlarında gözlenen fungisidal etkinliğin, bu dozlara maruz kalmış fungal etmenin hif ve konidileri üzerinde uçucu yağların ciddi morfolojik bozukluklara neden olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. Çalışmalarda yüksek etkinliğe sahip olarak belirlenen kekik türlerine ait uçucu yağların teksele ve/veya karışım halinde preparatları yapılarak fumigant olarak *B. cinerea* gibi depolanmış ürünlerde sorun olan fungal hastalık etmenlerine karşı sentetik fungusitlere alternatif olabilecek çevre dostu doğal preparatlar olarak kullanılabilme potansiyeline sahip olduğu değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar bu tür etkili uçucu yağların gelecekte üreticilerin pratik olarak kullanabileceği preparatlara dönüştürülme çalışmalarına katkı sağlayacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, HMKÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiş proje (06-M-0203) kapsamında gerçekleştirilmiştir.

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

- Abbey, J.A., Percival, D., Abbey, L., Asiedu, S.K., Prithiviraj, B., & Schilder, A. (2019). Biofungicides as alternative to synthetic fungicide control of grey mould (*Botrytis cinerea*)-prospects and challenges. *Biocontrol Science and Technology*, 29, 241–262. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1548574>
- Abdolahi, A., Hassani, A., Ghuosta, Y., Bernousi, I., & Meshkatalasadat, M.H. (2010). *In vitro* efficacy of four plant essential oils against *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. and *Mucor piriformis* A. Fischer. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13, 97-107. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643796>
- Ağar, İ.T. (1987). *Satsuma, klemantin ve fremont mandarinleri ile mineola tangelo'nun kontrollü atmosferde muhafaza olanakları üzerinde araştırmalar (Tez No 2066)*. [Yüksek Lisans Tezi Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği

- Ana Bilim Dalı, 160 sayfa]. Yükseköğretim Kurulu Ulusal Tez Merkezi.
- Aguilar-González, E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *32*, 181–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.003>
- Altintas, A., Tabanca, N., Tyihak, E., Ott, P.G., Moricz, A.M., Mincsovcics, E., & Wedge, D.E. (2013). Characterization of volatile constituents from *Origanum onites* and their antifungal and antibacterial activity. *Journal of Aoac International*, *96*, 1200-1208. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.SGEAltintas>
- Amiri, Z., Sourestani, M.M., Mortazavi, S.M.H., Kiasat, A.R., & Ramezani, Z. (2022). Efficiency of chemical composition of some essential oils against *Botrytis cinerea*, the pathogen of post-harvest strawberry fruits. *Journal of Food Measurement and Characterization* *16* : 66–75. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01133-z>
- Anonim, (2021). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi: 28.01.2022).
- Anonymous, (2020). Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize> (Alınma Tarihi: 24.02.2022).
- Anonymous, (2022). *Botrytis* Diseases and Disorders. Agriculture: Citrus Pest Management Guidelines, <https://www2.ipm.ucanr.edu/agriculture/citrus/Botrytis-Diseases-And-Disorders/>
- Arras, G. & Usai, M. (2001). Fungitoxic activity of 12 essential oils against four postharvest citrus pathogens: chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of Food Protection*, *64*, 1025-1029. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-64.7.1025>.
- 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>
- Atay, M. & Soylu, S., (2023). Kurutmalık biber meyvelerinde iç çürüklüğüne neden olan bazı fungal etmenlere karşı bitki uçucu yağlarının *in vitro* antifungal etkileri. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, *26*(1), 76-89. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.1085859>.
- Bazioli, J.M., Belinato, J.R., Costa, J.H., Akiyama, D.Y., de Moraes Pontes, J.G., Kupper, K.C., Augusto, F., de Carvalho, J.E., & Fill, T.P. (2019). Biological control of citrus postharvest phytopathogens. *Toxins*, *11*, article no. 460. <https://doi.org/10.3390/toxins11080460>
- Benli, M. (2003). Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, *1*, 1-25.
- Bouchra, C., Achouri, M., Idrissi Hassani, L.M. & Hmamouchi, M. (2003). Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven moroccan labiatae against *Botrytis cinerea* pers: Fr. *Journal of Ethnopharmacology*, *89*, 165-169. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00275-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00275-7)
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, *94*, 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Camele, I., De Feo, V., Altieri, L., Mancini, E., De Martino, L., & Rana, G.L. (2010). An attempt of postharvest orange fruit rot control using essential oils from Mediterranean Plants. *Journal of Medicinal Food*, *13*, 1515-1523. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.0285>
- Cohen, E. (1989). Evaluation of fenpropimorph and flutriafol for control of sour rot, blue mold and green mold in lemon fruit. *Plant Disease*, *73*, 807-809
- Dave, B., Sales, M., & Walia, M. (1990). Resistance of different strains of *Penicillium digitatum* to imazalil treatment in California citrus packinghouse. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, *102*, 178-179.
- de Oliveira Filho, J.G., da Cruz Silva, G., de Aguiar, A.C., Cipriano, L., de Azeredo, H.M.C., Junior, S.B., & Ferreira, M.D. (2021). Chemical composition and antifungal activity of essential oils and their combinations against *Botrytis cinerea* in strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*, 1815–1825. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00765-x>.
- Delen, N., & Tosun, N. (1995). *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı dithiocarbamate'lara duyarlılığı üzerinde çalışmalar. *7.Türkiye Fitopatoloji Kongresi Bildirileri*, Adana, 141-144.
- Diénez, F., Santos, M., Blanco, R., & Tello, J.C. (2002). Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* isolates from strawberry crops in Huelva (southwestern Spain). *Phytoparasitica*, *30*, 529-534. <https://doi.org/10.1007/BF02979759>
- Hadian, J., Ghasemnezhad, M., Ranjbar, H., Frazane, M., & Ghorbanpour, M. (2008). Antifungal potency of some essential oils in control of postharvest decay of strawberry caused by *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *11*, 553-562. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2008.10643666>
- Ismail, M., & Zhang, J. (2004). Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks Pest Management*, *15*, 29–35. <https://doi.org/10.1564/15feb12>

- Isman, B.M. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19, 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Jafarzadeh, S., Salehabadi, A., Nafchi, A.M., Oladzadabbasabadi, N., & Jafari, S.M. (2021). Cheese packaging by edible coatings and biodegradable nanocomposites; improvement in shelf life, physicochemical and sensory properties. *Trends Food Science & Technology*, 116, 218–231. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.021>
- Jayasekara, A., Daranagama, A., Kodituwakku, T.D., & Abeywickrama, K. (2022). Morphological and molecular identification of fungi for their association with postharvest fruit rots in some selected citrus species. *The Journal of Agricultural Sciences-Sri Lanka*, 17, 79-93. <http://doi.org/10.4038/jas.v17i1.9612>
- Kahramanoglu, I., Panfilova, O., Kesimci, T.G., Bozhuyuk, A.U., Gurbuz, R., & Alptekin, H. (2022). Control of postharvest gray mold at strawberry fruits caused by *Botrytis cinerea* and improving fruit storability through *Origanum onites* L. and *Ziziphora clinopodioides* L. volatile essential oils. *Agronomy*, 12, Article Number 389. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020389>
- Kaplan, H.J., & Dave, B.A. (1979). The current status of imazalil: a post harvest fungicide for Citrus. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 92, 37-43.
- 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. (2022a). Rezene ve defne uçucu yağ karışımlarının kimyasal bileşenlerinin servi sürgün uç yanıklığı hastalık etmeni *Pestalotiopsis funerea*'ya karşı antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 25 (1), 113-126. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.904966>
- Kara, M., Türkmen, M., Soylu, S. (2022b). Chemical compositions and *in vitro* antifungal activities of essential oils obtained from different *Origanum* species against postharvest gray mold rot of persimmon fruit. *Acta Horticulturae*, 1338, 283-290. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2022.1338.41>
- Kelly, J.L., & Austin, L.A. (1985). A quantitative detection method for *P. italicum* and *P. digitatum* in citrus packinghouses. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 98, 211-213.
- Knobloch, K., Pauli, P., Iberl, B., Weigand, H., & Weis N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1, 119-128. <https://doi.org/10.1080/10412905.1989.9697767>
- Liu, X., Wang, L.P., Li Y.C., Li H.T., Yu, T., & Zheng, X.D. (2009). Antifungal activity of thyme oil against *Geotrichum citri-aurantii* *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Applied Microbiology*, 107, 1450-1456. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04328.x>
- Maldonado M.C., Corona J., Gordillo M.A., Navarro AR., (2009). Isolation and partial characterization of antifungal metabolites produced by *Bacillus* sp. IBA 33. *Current Microbiology*, 59, 646-650 <https://doi.org/10.1007/s00284-009-9489-5>
- Mbili N.C., Opara, U.L., Lennox, C.L., & Vries, F.A. (2017). Citrus and lemongrass essential oils inhibit *Botrytis cinerea* on 'Golden Delicious', 'Pink Lady' and 'Granny Smith' apples. *Journal of Plant Disease and Protection*, 124, 499-511. <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0121-9>
- Myresiotis, C.K., Karaoglanidis, G.S., & Tzavella-Klonari, K. (2007). Resistance of *Botrytis cinerea* isolates from vegetable crops to anilinopyrimidine, phenylpyrrole, hydroxylanilide, benzimidazole, and dicorboximide fungicides. *Plant Diseases*, 91, 407-403. <https://doi.org/10.1094/PDIS-91-4-0407>
- Özbel, T., & Delen, N. 1995. Turunçgil meyvelerinde *Penicillium* türlerinin oluşturdukları hasat sonrası çürüklüklerine karşı fungusitlerin etkinlikleri üzerinde çalışmalar. *7.Türkiye Fitopatoloji Kongresi*, 220-223.
- Pappas, A.C. (1982). Metalaxyl resistance and control of cucumber downy mildew with oomycetes-fungicides. *Annales de l'Institut Pythopathologique Benaki*, 13, 194-212.
- Perina, F.J., Amaral, D.C., Fernandes, R.S., Labory, C.R.G., Teixeira, G.A., & Alves, E. (2015). *Thymus vulgaris* essential oil and thymol against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: effects on growth, viability, early infection and cellular mode of action. *Pest Management Science*, 71, 1371-1378. <https://doi.org/10.1002/ps.3933>
- Prusky, D. (2011). Reduction of the incidence of postharvest quality losses, and future prospects. *Food Security*, 3, 463-474. <https://doi.org/10.1007/s12571-011-0147-y>
- Rasooli, I., Rezaei, M.B., & Allameh, A. (2006). Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus eriocalyx* and *Thymus x-porlock*. *Food Control*, 17, 359-364. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.12.002>
- Romagnoli, C., Bruni R., Andreotti, E., Rai, M.K., Vicentini, C.B. & Mares, D. (2005). Chemical characterization and antifungal activity of essential oil of capitula from wild Indian *Tagetes patula* L. *Protoplasma*, 225, 57-65. <https://doi.org/10.1007/s00709-005-0084-8>
- Rosslensbroich, H.J., & Stuebler, D. (2000). *Botrytis cinerea*—history of chemical control and novel fungicides for its management. *Crop Protection*, 19,

- 557-61. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00072-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00072-7).
- Saito, S., & Xiao, C.L. (2017). Prevalence of postharvest diseases of mandarin fruit in California. *Plant Health Progress*, 18, 204-210. <https://doi.org/10.1094/PHP-08-17-0048-RS>
- Saito, S., & Xiao, C-L. (2017b). Emerging post-harvest fruit rot diseases of mandarins. *Citrograph*, 8, 44-47.
- Saito, S., & Xiao, C-L. (2018). Fungicide resistance in *Botrytis cinerea* populations in California and its influence on control of gray mold on stored mandarin fruit. *Plant Disease*, 102, 2545-2549. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0766-RE>.
- Saito, S., Michailides, T.J., & Xiao, C. L. (2016). Mucor rot – An emerging post-harvest disease of mandarin fruit caused by *Mucor piriformis* and other *Mucor* spp. in California. *Plant Disease* 100(6), 1054-1063. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-15-1173-RE>.
- Salunkhe, D.K., & Desai, B.B. (1984). Postharvest Biotechnology of Fruits. *Mahatma Phule Agricultural University, India, CRS Pres, Vol 1 :59-75*
- Soylu, E.M., & Köse, F. (2015). Antifungal activities of essential oils against citrus black rot disease agent *Alternaria alternata*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18, 894-903.
- Soylu, 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>.
- Soylu, E.M., Soyly, S., & Kurt, Ş. (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>.
- Soylu, 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.
- Soylu, S., Yigitbas, H., Soyly, E.M., & Kurt, Ş. (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>.
- Stange, R.R., & Eckert, J.W. (1994). Influence of postharvest handling and surfactants on control of green mold of lemons by curing. *Phytopathology*, 84, 612-616. <https://doi.org/10.1094/Phyto-84-612>.
- Szczerbanik, M., Jobling, J., Morris, S., & Holford, P. (2007). Essential oil vapours control some common postharvest fungal pathogens. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47, 103-109. <https://doi.org/10.1071/EA05236>.
- Toker, S., & Biçici, M. (1996). Turunçgil meyvelerinde görülen hasat sonrası hastalıklara bazı fungusit ve depolama uygulamalarının etkisi. *Turkish Journal of Agricultural and Forestry*, 20, 73-83.
- Uysal, A., Kurt, Ş., Soyly, S., Kara, M., & Soyly, E.M. (2022). Hatay ilinde yer alan turunçgil paketleme tesislerinde meyve ve hava kökenli mikrobiyotaya içerisindeki fungal ve bakteriyel türler ile yoğunluklarının belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(2), 340-351. <https://doi.org/10.37908/mkutbd.1095692>.
- Vaughn, S.F., & Spencer, G.F. (1994). Antifungal activity of natural compounds against thiabendazole-resistant *Fusarium sambucinum* strains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 200-203. <https://doi.org/10.1021/jf00037a036>.
- Vitoratos, A., Bilalis, D., Karkanis, A., & Efthimiadou, A. (2013). Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 41, 86-92. <https://doi.org/10.15835/nbha4118931>.
- Wild, B.L., and Eckert, J.W. (1982). Synergy between a benzimidazole-sensitive isolate and benzimidazole-resistant isolates of *Penicillium digitatum*. *Phytopathology*, 72, 1329-1332.
- Wilson, C.L., & Pusey, P.L. (1985). Potential for biological control of postharvest plant diseases. *Plant Disease*, 69, 375-378.
- Wilson, C.L., Ghaouth, A.E., Chalutz, E., Drony, S., Stevens, C., Lu, J.Y., Khan, V., and Arul, J. (1994). Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plant Disease*, 78, 837-844.
- Wodnicka, A., Huzar, E., Dzieciol, M., & Krawczyk, M. (2019). Comparison of the composition and fungicidal activity of essential oils from fennel fruits cultivated in Poland and Egypt. *Polish Journal of Chemical Technology*, 21, 38-42. <https://doi.org/10.2478/pjct-2019-0018>.
- Yilmaz, A., Ermis, E., & Boyraz, N. (2016). Investigation of *in vitro* and *in vivo* anti-fungal activities of different plant essential oils against postharvest apple rot diseases - *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Journal of Food Safety and Food Quality*, 67, 122-131. <https://doi.org/10.2376/0003-925X-67-12>.
- Zambonelli, A., Zechini D'Aulerio, A., Bianchi, A., & Albasini, A. (1996). Effects of essential oils on phytopathogenic fungi *in vitro*. *Journal of Phytopathology*, 144, 491-494. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1996.tb00330.x>.