

***Chlorella protothecoides* Mikroalg Yağının *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* Küflerine Karşı Antifungal Etkisinin İncelenmesi**

Didem ÖZÇİMEN*

Yıldız Teknik Üniversitesi, Kimya Metalürji Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Davutpaşa Kampüsü,
34220, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu yazar: E-mail: ozcimen@yildiz.edu.tr

Geliş Tarihi (Received): 11.12.2017

Kabul Tarihi (Accepted): 30.12.2017

Mikroalgler antibiyotik, antiviral, antitumor ve antioksidan gibi biyolojik olarak aktif bileşiklerle doğal olarak zengin kaynaklardır. Buna ek olarak, bu mikroorganizmaların sağlığı teşvik ve dejeneratif hastalıkların gelişme riskini azaltmak için yeteneği vardır. Yeni farmasötik maddeler geliştirmek, kimyasal ve farmakolojik yenilik ve çeşitlilik sağlamak için bu biyolojik olarak aktif bileşiklerin araştırılması büyük önem taşımaktadır. Bu bağlamda, çeşitli mikroalg türlerinden elde edilen mikroalg yağlarının çeşitli mikroorganizmalara karşı in vitro antimikrobiyal ve/veya antifungal aktiviteye sahip olduğu ve fungistatik olarak ta kullanılabilmesi düşünülmektedir. Bu çalışmada, dimetil sülfoksit (DMSO), etanol ve metanol çözücülerini kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözülen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının, *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* gibi fungal mikroorganizmalara karşı, disk difüzyon yöntemi kullanılarak antifungal etkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda, mikroalg yağının farklı çözücülerde ve farklı oranlarda hazırlanmış ekstraktlarının *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* patojenlerine karşı antifungal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar, alg türlerinde antifungal bileşiklerin varlığının ve alglerin ilaç endüstrisi için özellikle araştırılması gerektiğinin önemli bir göstergesidir.

Anahtar Kelimeler: Saprofit küf, Antifungal aktivite, Mikroalg, *Chlorella Protothecoides*

Investigation of Antifungal Effect of *Chlorella Protothecoides* Microalgae Oil Against *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* fungi

Microalgae are natural rich sources of biologically active compounds such as antibiotics, antivirals, antitumorals and antioxidants. Furthermore, these microorganisms have the ability to promote health and reduce the risk of the development of degenerative diseases. In order to develop new pharmaceuticals and provide chemical and pharmacological innovations and diversity, the investigation of these biologically active compounds is very important. In this context, it is thought that microalgae oils obtained from various microalgae species have in vitro antimicrobial and/or antifungal activity against various microorganisms and can be used as fungistatic. In this study, antifungal activities of *Chlorella protothecoides* microalgae oil dissolved in 50 and 100 mg/mL of dimethyl sulfoxide (DMSO), ethanol and methanol solvents against pathogenic fungi: *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* was investigated by agar disc diffusion assay method. As a result of this study, it was seen that almost all of the extracts of microalgae have antifungal activity against *Botrytis cinerea* and *Aspergillus niger* pathogens. These results are an important indication of the presence of antifungal compounds in algae and algal species should be specifically investigated for the pharmaceutical industry.

Key words: Saprophytic fungus, Antifungal activity, Microalgae, *Chlorella protothecoides*

Giriş

Deniz canlıları, dünyanın varoluşundan bu yana canlıların ihtiyacı olan temel besinlerin önemli bir parçası olmuştur. Su ürünlerinin kalsiyum, fosfor, iyot, D, B ve A vitaminleri, çoklu doymamış yağ asitleri, karbonhidrat ve protein gibi temel besin maddeleri ile dejeneratif hastalığı önleyici rolü

olduğu düşünülmektedir (Baytaşoğlu ve Başusta, 2014). Su ürünlerinin büyük çoğunluğunu oluşturan algler klorofil içeren, yeşil, mavi-yeşil, kahverengi ve kırmızı renkte olabilmektedirler. Mikro ve makroalgler olarak ikiye ayrılan algler, fotosentez yoluyla karbondioksiti ve güneş ışığını çok etkin bir şekilde enerjiye dönüştüren yağ üreticileridir (Gökınar, 2013; Cox, 2015). Algler, hücre içinde depoladıkları protein, karbonhidrat, yağ asitleri, vitamin, mineral, pigmentler ve daha

birçok değerli metabolitleri nedeniyle (Deans ve Soboda, 1990); sağlığı koruyucu, gıda desteği, hayvan yemi, toprak yapısını iyileştirici gübre, doğal gıda boyası, ve kozmetik sanayinde kullanımları gibi farklı alanlarda kullanılabilirler (Gökpınar ve ark., 2013). Tokoferoller, askorbik asit, karotenoidler, flavonoidler ve retinoidler alglerde bulunabilen başlıca antioksidan bileşiklerdir (Baytaşoğlu ve Başusta, 2014). Tek hücreli alg türü olan *Chlorella vulgaris* tıbbi özelliklere sahip birçok biyoaktif bileşiği içermektedir. *Chlorella* kapsamında yürütülen deneysel çalışmalar; *Chlorella*'nın antitümör, antikanser, antioksidan, antifungal ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Dantas ve ark., 2015). Bazı mikroalg türleri çeşitli stres koşulları (azot stresi, yüksek ışık şiddeti, yüksek tuzluluk gibi stres koşulları) altında büyütüldüğünde hücre içinde β -karoten, astaksantin, zeaksantin ve lutein gibi antioksidan maddelerin birikmesi sağlanabilir. Böylece mikroalg kültür ortamında bu parametrelerle oynanarak hücreler üzerinde stres koşulları uygulanır ve bu yolla kültüre alınan hücrelerin istenen ürünü daha fazla üretmesi sağlanabilir (Gökpınar ve ark., 2006). Mikroalg içeriklerinin bu süpürücü kapasitesi dejeneratif hastalıklar, inflamasyon, yaşlanma veya derinin UV ışığına maruz kalma gibi oksidasyonla ilişkili durumlara karşı mikroalgleri potansiyel biyoaktif maddeler haline getirmektedir (Hajimahmoodi, 2010; Oh, 2017). Sanmukh ve ark. (2014); *Chlorella* türünün biyolojik olarak aktif bileşiklerinin *Staphylococcus* türüne karşı antibakteriyel etkisini göstermiştir. Sanmukh ve ark. (2014); mikroalglerin antibakteriyel, antiviral ve antifungal etkilerini onaylamış; buna ek olarak, alglerden elde edilen biyoaktif bileşiklerin kullanımının geleneksel tedavi yöntemleri ile karşılaştırıldığında çok daha yararlı olacağını belirtmiştir. Alglerin antimikrobiyel aktivitesi, alg türlerine ve ekstraksiyonunda kullanılan çözücülere bağlıdır. Algal ekstraktların antimikrobiyel aktivitesi genellikle çeşitli organik çözücüler kullanılarak test edilmektedir (Vishnu, 2014; Oflat, 2014). Son yıllarda farklı yaşam bilimleri alanlarında potansiyel uygulamaları nedeniyle algal biyolojik olarak aktif bileşikler araştırmacıların ve şirketlerin dikkatini çekmektedir (Demorais ve ark., 2015). Antibiyotiklere karşı patojenlerin direncinin artması ile daha iyi potansiyele sahip, antibiyotiklerden daha az yan etkilere sahip, biyo yararlanımı daha iyi olan doğal antimikrobiyel bileşikler keşfetmeye ve geliştirmeye ihtiyaç vardır

(Pérez ve ark., 2016). Alglerin patojenik mikroorganizmalara karşı aktif bileşiklerin bir kaynağı olduğu farklı çalışmalarla doğrulanmıştır. Alglerin %70'i antibakteriyel aktivite gösterirken ancak %27.5'i antifungal etki göstermiştir. Yapılan bir çalışmada, denizsel alg türlerinin etanol ve lipid-çözünür ekstraktlarının Gram-pozitif ve Gram negatif bakterilere ve bazı funguslara karşı aktivitesi değerlendirilmiş ve %80'den fazla türün Gram pozitif test bakterilere karşı etkin olduğu bildirilmiştir (Pérez ve ark., 2016). Ontogenetik ve çevresel etkiler, mevsimsel değişiklikler, okyanus ısı, tuzluluk ve kirlenmeler gibi doğal faktörler algal biyoaktif içeriği üzerinde derin bir etkiye sahiptir (Shannon ve Abu-Ghannam, 2016). Farklı çalışmalar kimyasal bileşimin ve antimikrobiyel etkinin mevsimlere göre değişimini doğrulamıştır. Çoğu araştırmacı, ilkbaharda maksimum antimikrobiyel etki tespit etmiştir. Bununla birlikte, fenolik bileşim, antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etki mevsimlere göre farklılıklar göstermiş olup, ilkbahar ve yaz aylarında en yüksek inhibisyon etkinliği ve kış aylarında ise en yüksek fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi gözlenmiştir. Bunlara ek çalışmalarda ise, alg sınıfları arasındaki antifungal ve antibakteriyel etkilerin mevsimsel değişimini ve bazı mevsimlerde daha düşük aktiviteli olduklarını göstermiştir; *Phaeophyceae*'nin belirli mevsimlerde daha düşük aktiviteli olduğu, *Rhodophyceae*'nin mevsim boyunca farklılıklar gösterdiği ve *Chlorophyceae*'nin yıl boyunca aktif olduğu gözlenmiştir (Pérez ve ark., 2016).

Sebze ve meyvelerde patojenlerden kaynaklanan hasat sonrası kayıplar, göz ardı edilemeyecek kadar çoktur (Droby, S. 2006). Fungal bitki patojenleri meyve ve sebzelerde çürüklüğe yol açarak büyük ölçüde hasat sonrası kayıplara yol açarlar. Özellikle yaş meyveler düşük pH ve yüksek nem içeriğinden dolayı patojen funguslar tarafından kolaylıkla bozulmaya uğrarlar (Moss, 2002). Hastalıklı ürünler enfeksiyon sonucu sağlam olan ürünleri da etkilemektedirler. Enfekte olan ürünlerden sağlam olanlara da bulaşma gerçekleşir ve kayıpların daha çok artmasına neden olmaktadır. Hasat sonrası çürüklere yol açan fungal etmenler ya doğrudan, yada hasattan sonra ürünlerde çeşitli sebeplerle (böcek, kuş, don, zedelenme vb.) oluşan yaralardan enfeksiyon yaparlar (Benli, 2003). Meyvelerde hasat sonrası zarar yapan en önemli fungal etmenler arasında *Botrytis spp.*, *Aspergillus niger*, *Alternaria spp.* ve *Rhizopus spp.* fungus türleri bulunmaktadır (Antunes ve Cavaco, 2010).

Bu çalışmada, dimetil sülfoksit (DMSO), etanol ve metanol çözücüleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözülen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının, *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger* gibi küflere karşı, disk difüzyon yöntemi kullanılarak antifungal etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan mikroalg yağı, Yıldız Teknik Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarı'nda üretilen *Chlorella protothecoides* türü mikroalglerin önce çözücü ortamında soxhlet ekstraksiyonu ve sonrasında döner buharlaştırıcıda çözücünün uzaklaştırılmasıyla elde edilmiştir. *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının antifungal etkisini incelemek amacıyla 50 ve 100 mg alg yağı, DMSO (Merck), etanol (Merck) ve metanol (Merck) gibi farklı çözücülerin 1 mL'sinde çözülerek, 50 ve 100 mg/mL'lik konsantrasyonlar şeklinde hazırlanarak kullanılmıştır.

Fungal mikroorganizmalar: *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger van Tieghem*, Yıldız Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan temin edilmiştir (Yılmaz ve ark., 2016a ve 2016b). *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger van Tieghem* fungal mikroorganizmaların saflaştırılıp çoğaltılmasında ve antifungal etkinin belirlenmesinde standart bir besiyeri olan Patates Dekstroz Agar (PDA, Merck) kullanılmıştır.

Algal ekstraktların antifungal etkisinin belirlenmesi

Disk difüzyon metodu uygulanarak antifungal etki belirlenmiştir (Boyras ve Özcan, 1997). Otoklavda 121°C'de, 1 atmosfer basınçta 15 dk steril edilen ayarlanmış PDA besi ortamları 15'er ml steril petri kaplarına dökülmüştür. PDA ortamında geliştirilen 7-10 günlük fungal kültürlerden delici ile alınan fungal diskler petrilerin ortasına yerleştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan petrilerin üst kapaklarına steril kültür antibiyogram disk kâğıtları yerleştirilmiştir. DMSO, etanol ve metanol ile 50 ve 100 mg/mL'lik konsantrasyonlarda hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağı 50 µl/petri dozunda otomatik pipetlerle disk kâğıtlarına uygulanmıştır. Kontrol olarak hazırlanan petrilerin kapaklarındaki antibiyogram disk kâğıtlarına ise

aynı oranda DMSO, etanol ve metanol emdirilmiştir. Petri kapakları sıkıca parafillendikten sonra ters çevrilerek 6 gün boyunca 27°C'de inkübasyona bırakılmıştır (Feng ve ark., 2011). Petrilerde gelişen *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger van Tieghem* funguslarının koloni çapları 3., 4., 5. ve 6. günlerde dijital kumpas kullanılarak birbirine dik ve ayrı yönde ölçülmüştür. Denemeler üç tekrarlı ve her tekrarda üç paralel olacak şekilde yürütülmüştür.

İstatistiksel analizler

Araştırma sonrasında elde edilen veriler, deney desenlerine uygun olarak varyans analizlerine tabi tutulmuştur. *In vitro* analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, her bir fungus türü kendi içerisinde değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Varyans analizleri JMP (release 6.0.0, SAS) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki önem dereceleri ise aynı paket program kullanılarak, Student's *t* karşılaştırma testi ile tespit edilen ortalamalar arasındaki asgari önemdeki farklara (AÖF) göre belirlenmiştir (Temiz ve Temur, 2017).

Bulgular ve Tartışma

Çizelge 1'de dimetil sülfoksit (DMSO), etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümleri verilmiştir. Çizelge 1'e göre farklı solventler kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea*'nın fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde; 6. inkübasyon gününde *Botrytis cinerea*'nın en düşük misel gelişimini DMSO'da 44 mm gösterirken en yüksek misel gelişimi metanol'de 58.5 mm olarak elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise DMSO'da 90 mm iken etanol ve metanol'de sırası ile 86.5 mm ve 79.5 mm olduğu gözlenmiştir (Şekil 1). *Botrytis cinerea*'nın misel gelişimini durduran veya inhibe eden, kullandığımız alg türünde bulunan fenolik ve terpenoid bileşikler olduğu düşünülmektedir (Demorais, 2015; Oh, 2017).

Çizelge 1. DMSO, etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözölen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea* misel gelişimini engelleme oranları

Table 1. Inhibition of *Botrytis cinerea* mycelial growth of *Chlorella protothecoides* microalgae oil dissolved in 50 and 100 mg/mL by using DMSO, ethanol and methanol solvents

İnkübasyon süresi	Alg Yağı Konsantrasyonu	Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)			
		Emdirilen Alg Yağı	DMSO	Etanol	Metanol
3 gün	50 mg/mL	Kontrol	42.33±2.51 ^{A,a}	29.66±0.57 ^{A,c}	32.7±3.12 ^{A,b}
		50 µl/petri	42.12±1.03 ^{A,a}	29±1.63 ^{A,c}	32.5±0.5 ^{A,b}
		100 µl/petri	41±1.68 ^{A,a}	28±1.41 ^{A,c}	30.8±1.7 ^{A,b}
4 gün	50 mg/mL	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	42.66±2.51 ^{A,c}	48.5±3.7 ^{A,b}
		50 µl/petri	44.5±1.29 ^{B,b}	41.37±3.68 ^{A,c}	47.6±1.15 ^{A,a}
		100 µl/petri	44±2.3 ^{B,a}	40.2±0.95 ^{A,b}	45.2±1.7 ^{A,a}
5 gün	50 mg/mL	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	81.5±1.32 ^{A,b}	73.6±3.2 ^{A,c}
		50 µl/petri	44.5±1.29 ^{B,c}	51.5±4.7 ^{B,b}	59.6±1.52 ^{B,a}
		100 µl/petri	44±1.29 ^{B,c}	50.5±0.57 ^{B,b}	55.25±1.35 ^{C,a}
6 gün	50 mg/mL	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	86.5±1.29 ^{A,b}	79.5±3.7 ^{A,c}
		50 µl/petri	44.5±1.29 ^{B,c}	55.5±3.7 ^{B,b}	62.6±1.2 ^{B,a}
		100 µl/petri	44±1.29 ^{B,c}	53.5±0.7 ^{B,b}	58.5±1.5 ^{C,a}

*Sayılar; ortalama koloni çapı ± SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=4). Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen p değerleri 0.05'ten küçük olduğunda (p<0.05) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir. *A-C: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05). *a-c: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki farklı solventlereki alg örnekleri arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05).

Çizelge 2. DMSO, etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözölen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranları

Table 2. Inhibition of *Aspergillus niger* mycelial growth of *Chlorella protothecoides* microalgae dissolved in 50 and 100 mg/mL by using DMSO, ethanol and methanol solvents

İnkübasyon süresi	Alg Yağı Konsantrasyonu	Misel Büyüme Çapı Değerleri (mm)			
		Emdirilen Alg Yağı	DMSO	Etanol	Metanol
3 gün	50 mg/mL	Kontrol	52.5±0.7 ^{A,a}	50±0.0 ^{A,b}	45.75±2.47 ^{A,c}
		50 µl/petri	44.2±3.6 ^{B,b}	49.66±0.76 ^{B,a}	43±2.78 ^{B,b}
		100 µl/petri	43±4.0 ^{B,b}	49.5±0.5 ^{B,a}	42.3±3.78 ^{B,b}
4 gün	50 mg/mL	Kontrol	71.7±1.06 ^{A,a}	66±1.41 ^{A,b}	59.5±4.94 ^{A,c}
		50 µl/petri	44.2±3.56 ^{B,c}	64.66±0.76 ^{B,a}	57.66±5.03 ^{B,b}
		100 µl/petri	43.2±3.86 ^{B,c}	64.6±0.5 ^{B,a}	56.6±4.8 ^{B,b}
5 gün	50 mg/mL	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	79±4.2 ^{A,c}	81.5±2.10 ^{A,b}
		50 µl/petri	44.2±3.56 ^{B,c}	76±1.0 ^{B,a}	68±4.58 ^{B,b}
		100 µl/petri	43.2±3.86 ^{B,c}	72.8±3.32 ^{C,a}	67.6±3.21 ^{B,b}
6 gün	50 mg/mL	Kontrol	90±0.0 ^{A,a}	82±0.2 ^{A,c}	84±2.41 ^{A,b}
		50 µl/petri	44.2±3.56 ^{B,c}	77.5±1.06 ^{B,a}	71±4.58 ^{B,b}
		100 µl/petri	43.2±3.86 ^{B,c}	73.6±3.6 ^{C,a}	69.5±3.21 ^{B,b}

*Sayılar; ortalama koloni çapı ± SD (mm) standart sapma değerlerini temsil etmektedir (n=4). Örneklere ait verilerin karşılaştırılması sonucunda elde edilen p değerleri 0.05'ten küçük olduğunda (p<0.05) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir. *A-C: her sütun içinde, farklı büyük harfli üst simge her bir inkübasyon süresi için algal ekstrakt konsantrasyonları arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05). *a-c: her satır içinde, farklı küçük harfli üst simge her bir konsantrasyondaki farklı solventlereki alg örnekleri arasındaki farklar gösterilmektedir (p<0.05).

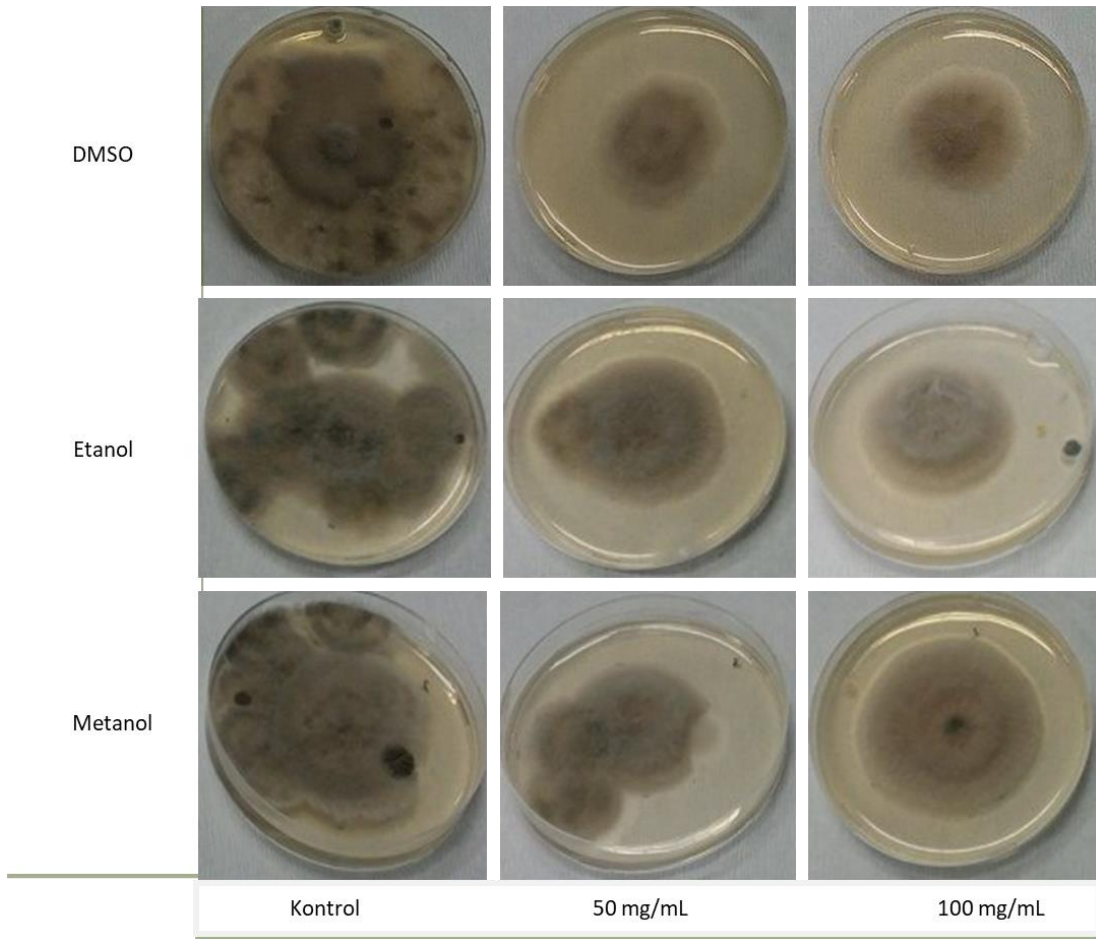
Çizelge 2’de dimetil sülfoksit (DMSO), etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Aspergillus niger* misel gelişimini engelleme oranlarının ölçümleri verilmiştir. Çizelge 2’ye göre farklı solventler kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Aspergillus niger*’in fungal koloni çapı değerleri üzerine 3., 4., 5. ve 6. inkübasyon gününde etkisi incelendiğinde; 6. inkübasyon gününde *Aspergillus niger*’in en düşük misel gelişimini DMSO’da 43.2 mm gösterirken en yüksek misel gelişimi etanol’de 73.6 mm elde edilmiştir. Kontrolün misel gelişimi ise DMSO’da 90 mm iken etanol ve metanol’de sırası ile 82 mm ve 84 mm olduğu gözlenmiştir (Şekil 2). Yüksek hidrofilik karakterlerinden dolayı polifenolik bileşikler birinden fazla -OH grubu içerdikleri için, polaritesi fazla olan yağ DMSO solventinde çok daha iyi çözümlenebilmekte ve dolayısıyla daha yüksek bir antifungal aktivite gösterebilmektedir (Temiz ve Temur, 2017).

Antifungal aktiviteye sahip sekonder metabolitler misel büyümesinin gelişimini durdurarak veya inhibe ederek, çimlenmeyi önleyerek veya fungal patojenlerin sporülasyonunu azaltarak etki etmektedirler. Alglerde bulunan lutein, astaksantin

ve tetraterpen gibi bileşikler *Aspergillus* türüne karşı etkili bileşiklerdir (Castillo ve ark., 2012).

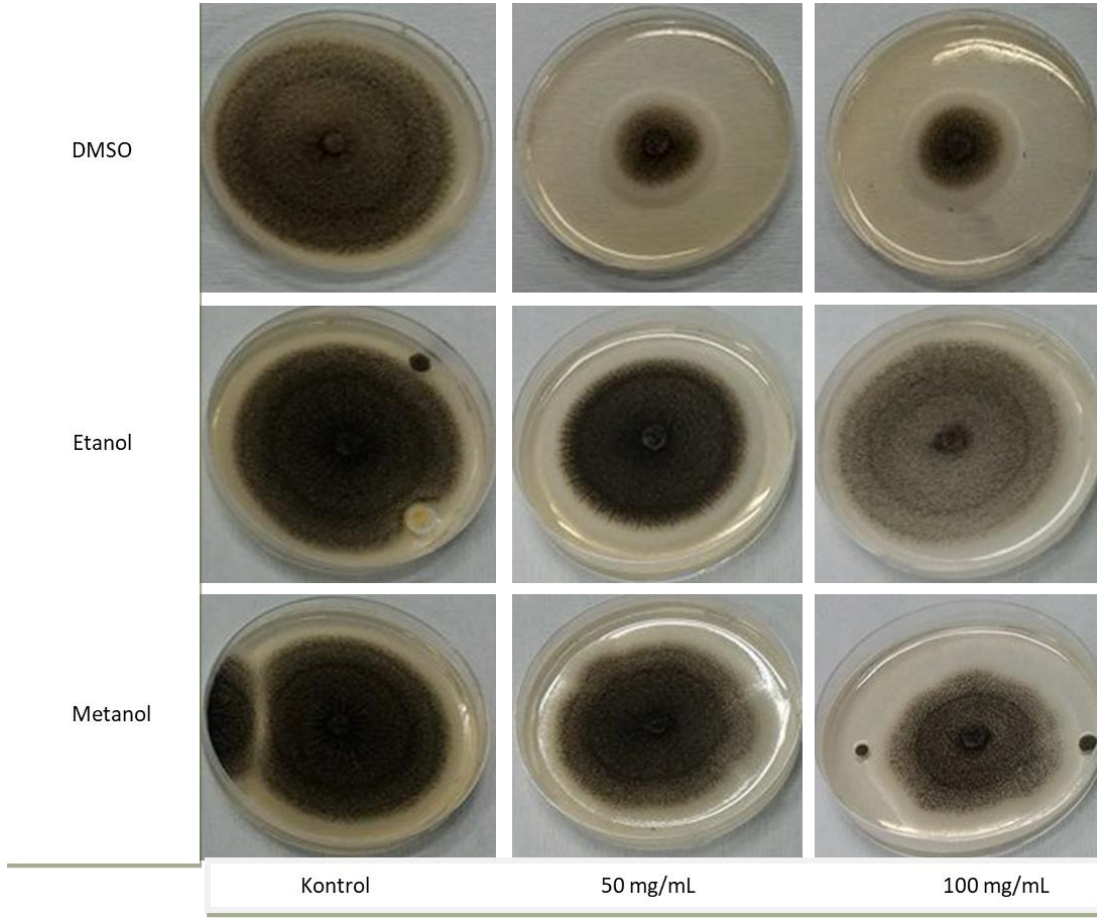
Sonuçlar

Çalışmada *Aspergillus niger* ve *Botrytis cinerea*’ya uygulanan mikroalg yağının az oranlarda uygulandığında bile fungal koloni çapı değerleri üzerinde mutlak bir fungistatik etkisi olduğu ve ayrıca yağın çözüldüğü çözücü çeşidinin de fungistatik özelliğın etkisine katkı yapabildiği sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, dimetil sülfoksit (DMSO), etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında hazırlanan *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının uygulamasında *Botrytis cinerea* ve *Aspergillus niger*’in misel gelişiminin oranları incelendiğinde, *Botrytis cinerea*’ya en yüksek etkiyi DMSO’da hazırlanan *Chlorella protothecoides* yağı gösterirken, en düşük etkiyi metanol’de hazırlanan *Chlorella protothecoides* yağının gösterdiği gözlenmiştir. *Aspergillus niger*’e ise en yüksek etkiyi DMSO’da hazırlanan *Chlorella protothecoides* yağı gösterirken, en düşük etkiyi etanol’de hazırlanan *Chlorella protothecoides* yağının gösterdiği görülmüştür.



Şekil 1. DMSO, etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözülen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Botrytis cinerea* koloni gelişimine etkisi

Figure 1. The effect of *Chlorella protothecoides* microalgae oil dissolved 50 and 100 mg/mL using DMSO, ethanol and methanol solvents on colony development of *Botrytis cinerea*



Şekil 2. DMSO, etanol ve metanol solventleri kullanılarak 50 ve 100 mg/mL oranında çözülen *Chlorella protothecoides* mikroalg yağının *Aspergillus niger* koloni gelişimine etkisi

Figure 2. The effect of *Chlorella protothecoides* microalga oil dissolved 50 and 100 mg/mL using DMSO, ethanol and methanol solvents on colony development of *Aspergillus niger*

Kaynaklar

- Antunes, M.D.C., A.M. Cavaco, 2010. The use of essential oils for postharvest decay control. A review. *Flavour Frag J.* 25: 351-366.
- Baytaşoğlu, H., N. Başusta, 2014. Deniz canlılarının tıp ve eczacılık alanlarında kullanılması. *Yunus Araştırma Bülteni.* 2: 71-80.
- Benli, M. 2003. Hasat sonrası fungal hastalıklarla kimyasal ve biyolojik mücadele. *Ortab On-line Mikrobiyoloji Dergisi.* 1: 1-25.
- Boyraz, N., M. Özcan, 1997. Bitki patojeni funguslara bazı yerli baharat ekstrat ve uçucu yağlarının antifungal etkileri. *Gıda.* 22 (6): 457-462.
- Castillo, F., D. Hernández, G. Gallegos, R. Rodríguez, C.N. Aguilar, 2012. Antifungal properties of bioactive compounds from plants. In: *Fungicides for plant and animal diseases.* Dr. Dharumadurai Dhanasekaran, N. Thajuddin and A. Panneerselvam (Eds.), ISBN: 978-953-307-804-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/fungicides-for-plant-and-animal-diseases/antifungal-properties-of-bioactivecompounds-from-plants>.
- Cox, S., G.H. Turley, G. Rajauria, N. Abu-Ghannam, A.K. Jaiswal, 2014. Antioxidant potential and antimicrobial efficacy of seaweed (*H.elongata*) extract in model food systems. *J. Appl. Phycol.* 26: 1823-1831.
- Dantas, D.M.M., R.M.P.B. Costa, M.G. Carneiro-Da-Cunha, A.O. Galvez, A.R. Drummond, R.S. Bezerra, 2015. Bioproduction, antimicrobial and antioxidant activities of compounds from *Chlorella vulgaris*. *J. Bot. Sci.* 4: 12-18.
- Deans, S.G., K.P. Soboda, 1990. The Antimicrobial properties of Marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. *Flavour Frag. J.* 187-190.
- De Morais, M.G., B. Da Silva Vaz, E.G. De Morais, J.A. Vieira Costa, 2015. Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research Int.* 15.
- Droby, S. 2006. Improving quality and safety of fresh fruit and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. *Acta Horticulturae.* 709: 45-51.
- Erdoğan, O., A. Çelik, Ş. Yıldız, K. Kökten, 2014. Pamukta fide kök çürüklüğü etmenlerine karşı bazı bitki ekstrakt

- ve uçucu yağlarının antifungal etkisi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi. 1 (3): 398-404.
- Feng, W., J. Chen, X. Zheng, Q. Liu, 2011. Tyme oil to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo* as fumigant and contact treatments. Food Control. 22: 78-81.
- Gökpınar, Ş., O. Işık, T. Göksan, Y. Durmaz, L. Uslu, B. Ak, S.K. Önalın, P. Akdoğan, 2013. Algal biyoteknoloji çalışmaları. Yunus Araştırma Bülteni. 4:22.
- Gökpınar, Ş., T. Koray, E. Akçiçek, T. Göksan, Y. Durmaz, 2006. Algal antioksidanlar. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi. 23: 85-89.
- Hajimahmoodi, M., M.A Faramarzi, N. Mohammadi, N. Soltani, M.R. Oveisi, N. Nafissi-Varcheh, 2010. Evaluation of antioxidant properties and total phenolic contents of some strains of microalgae. J. Appl. Phycol. 22: 43-50.
- Moss, M. O. 2002. Mycotoxin review- 1: Aspergillus and Penicillium. Mycologist. 16: 116-119.
- Oh, B.T., S.Y. Jeong, P. Velmurugan, J.H. Park, D.Y. Jeong, 2017. Probiotic-mediated blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) fruit fermentation to yield functionalized products for augmented antibacterial and antioxidant activity. J. Biosci. Bioeng. 5: 542-550.
- Salem Olfat, M.A., E.M. Hoballah, M. Ghazi Safia, N. Hanna Suzy, 2014. Antimicrobial activity of microalgal extracts with special emphasize on *Nostoc* Sp. Life Sci. J. 11 (12): 752-758.
- Pérez, M.J., E. Falqué, H. Domínguez, 2016. Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. Mar. Drugs. 14: 52.
- Sanmukh, S., B. Bruno, U. Ramakrishnan, K. Khairnar, S. Swaminathan, 2014. Bioactive compounds derived from microalgae showing antimicrobial activities. J. Aquac. Res. Development. 5:3.
- Shannon, E., N. Abu-Ghannam, 2016. Antibacterial derivatives of marine algae: An overview of pharmacological mechanisms and applications. Mar. Drugs. 14: 81.
- Temiz, M.A., A. Temur, 2017. Effect of solvent variation on polyphenolic profile and total phenolic content of olive leaf extract. Yyu. J. Agr. Sci. 27(1): 43-50.
- Vishnu, N., R. Sumathi, 2014. Isolation of fresh water microalgae *Chlorella sp* and its antimicrobial activity on selected pathogens. Int. J. Adv. Res. Biol. Sci. 1(3): 36-43.
- Yılmaz, A., E. Ermis, N. Boyraz, 2016a. Investigation of *in vitro* and *in vivo* anti-fungal activities of different plant essential oils against postharvest apple rot diseases *Colletotrichum gleosporioides*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. J. Food Safety Quality. 67: 113-148.
- Yılmaz, A., B. Bozkurt, P.K. Cicek, E. Dertli, Z.D. Durak, M.T Yılmaz, 2016b. A Novel antifungal surface-coating application to limit postharvest decay on coated apples: Molecular, thermal and morphological properties of electrospun zein–nanofiber mats loaded with curcumin. Innov. Food Sci. Emerging Technol. 37: 74-83.