



T.C.

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARASU (ERZİNCAN) NEHRİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TATLISU
ALGLERİNİN ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİ

Serbay ÇELEBİ

Danışman: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Ocak, 2023
Her Hakkı Saklıdır

ERZİNCAN BİNALİ YILDIRIM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KARASU (ERZİNCAN) NEHRİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TATLISU
ALGLERİNİN ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİ

Serbay ÇELEBİ

Danışman: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

FARMASÖTİK BİLİMLER
ANABİLİM DALI

ERZİNCAN
Ocak, 2023
Her Hakkı Saklıdır

Bilimsel Etiğe Uygunluk

“Karasu Nehrinden İzole Edilen Bazı Tatlısu Alglerinin Antifungal Özellikleri” isimli Yüksek Lisans Tezi, tarafımca intihal tespit programınca incelenmiştir. Buna göre tezimde bilimsel etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.
08/02/2023

Serbay ÇELEBİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KARASU (ERZİNCAN) NEHRİNDEN İZOLE EDİLEN BAZI TATLISU ALGLERİNİN ANTİFUNGAL ÖZELLİKLERİ

Serbay ÇELEBİ

Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Bilimler Anabilim Dalı

Amaç: Bu araştırmada, Erzincan Karasu Nehrinden izole edilen bazı alglerin antifungal özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal Metot: Erzincan Karasu Nehri bentik habitatlarından mekanik izolasyon yöntemiyle izole edilen alglerin (*Cladophora crispata* ve *Gloeotila subconstricta*), Erzincan Merkez köylerinden izole edilen ve kültür ortamında saflaştırılan (*Penicillium sp.*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*) bazı funguslar üzerine antifungal özellikleri, disk difüzyon yöntemiyle incelenmiştir.

Bulgular: *Cladophora crispata* ve *Gloeotila subconstricta* (Basionym: *Ulothrix subconstricta*)'nın metanol ekstraktlarının kültür ortamında, *Penicillium sp.*, *Alternaria alternata* ve *Botrytis cinerea* fungusları üzerindeki antifungal etkileri tespit edilmiştir. *Cladophora crispata* algi, *Botrytis cinerea* ve *Alternaria alternata* funguslarına etkili olmuş, *Penicillium sp* ise direnç göstermiştir. *Gloeotila subconstricta*, *A. alternata* üzerine etkili olurken; *Penicillium*, *A. alternata*'ya direnç göstermiştir.

Sonuç: Kültür ortamında yapılan testler sonucunda, çalışılan alglerde nispeten iyi derecede antifungal özellik görülmüş ve çalışmada Erzincan'daki bahçelerde etkili olan funguslara karşı anlamlı sonuçlar kaydedilmiştir. Bu açıdan, çalışmaya konu olan alglerde tespit edilen farmasötik özellikler, alglerin üretimlerinin yapılarak miktarlarının artırılması sonucunda detaylı bileşik analizleriyle, ileride yapılacak çalışmalara kaynak teşkil edecek potansiyeldedir.

2023, 33 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Cladophora crispata*, *Gloeotila subconstricta*, *Penicillium sp.*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, antifungal aktivite.

ABSTRACT

Master Thesis

ANTIFUNGAL PROPERTIES OF SOME FRESHWATER ALGAE ISOLATED FROM THE KARASU (ERZİNCAN) RIVER

Serbay ÇELEBİ

Erzincan Binali Yildirim University
Graduate School of Health Sciences
Department of Pharmaceutical Sciences

Supervisor: Prof. Dr. Köksal PABUÇCU

Aim: In this research, it was aimed to determine the antifungal properties of some algae isolated from the Erzincan Karasu River.

Material and Methods: Antifungal properties of algae (*Cladophora crispata* and *Gloeotila subconstricta*) isolated from benthic habitats of Erzincan Karasu River by mechanical isolation method, on some fungi (*Penicillium sp.*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*) isolated from vineyards in Erzincan Merkez villages and purified in culture medium, were investigated by disc diffusion method.

Results: The antifungal effects of methanol extracts of *Cladophora crispata* and *Gloeotila subconstricta* (Basionym: *Ulothrix subconstricta*) on *Penicillium sp.*, *Alternaria alternata* and *Botrytis cinerea* fungi were determined in the culture medium. It was effective against the fungi *Cladophora crispata*, *Botrytis cinerea* and *Alternaria alternata*. *Penicillium sp.* showed resistance. *Gloeotila subconstricta* was effective on *A. alternata*, *Penicillium* showed resistance too.

Conclusion: As a result of the tests carried out in the culture medium, relatively good antifungal properties were observed in the studied algae and significant results were recorded against the fungi that were effective in the gardens in Erzincan. In this respect, the pharmaceutical properties determined in the algae that are the subject of the study have the potential to be a source for future studies with detailed compound analyzes as a result of increasing the amount of algae by producing them.

2023, 33 page

Key words: *Cladophora crispata*, *Gloeotila subconstricta*, *Penicillium sp.*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, antifungal activity.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ KABUL SAYFASI.....	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Alglerin Genel Özellikleri.....	4
2.2. Çalışılan Fungusların Genel Özellikleri.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEMLER.....	7
3.1. Çalışma Alanı ve Alglerin izolasyonu.....	7
3.2.Alglerin Teşhisleri.....	8
3.3Fungusların İzolasyonu ve hazırlanması.....	9
3.4 Alg ekstraktlarının hazırlanması.....	11
3.5 Antibiyotik diskler.....	12
3.6. Antifungal Testler İçin Agar Besiyerlerinin Hazırlanması.....	12
3.7. Antifungal Aktivite için test mikroorganizmalarının Besiyerlerine İnokülasyonu.....	12
3.8.Ekim Grupları.....	13
3.9. Ölçümler.....	13
4. BULGULAR	14
4.1. İzole Edilen Algler.....	14

4.1.1. <i>Cladophora crispata</i> (Roth) kützing 1843.....	14
4.1.2. <i>Gloeotila subconstricta</i> (G. S. West) printz (Basionym: <i>Ulothrix subconstricta</i> G.S. west, 1964).....	15
4.2. İzole Edilen Funguslar.....	16
4.2.1. <i>Penicillium sp</i>	16
4.2.2. <i>Alternaria alternata</i> (Fries) keissler.....	17
4.2.3. <i>Botrytis cinerea</i> pers. (Kurşuni Küf).....	18
4.3. Antifungal Sonuçlar.....	19
5. TARTIŞMA.....	25
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	27
KAYNAKLAR.....	28
ÖZGEÇMİŞ.....	33

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. Alglerin İzole Edildiği İstasyonlar a. İstasyon haritaları b. 1. İstasyon c. 2. İstasyon	7
Şekil 3.2. Petri kapları içinde (a) <i>Cladophora crispata</i> (b) <i>Gloeotila subconstricta</i> ve (c) küvette izolasyon aşamasındaki algler	8
Şekil 3.3. Erzincan Siyah Üzümünden Fungus İzolasyonu (a,b).	10
Şekil 3.4. Doğadan izole edildikten sonra kültür ortamında üretilen <i>Penicillium sp.</i> petri kaplarında	10
Şekil 3.5. Doğadan izole edildikten sonra kültür ortamında üretilen <i>Alternaria alternata</i>	11
Şekil 3.6. <i>Botrytis cinerea</i>	11
Şekil 3.7. Sterilizasyon, antibiyotik disklerle ekstrakt ilavesi ve petrilerin hazırlanması	12
Şekil 4.1. <i>Cladophora crispata</i>	15
Şekil 4.2. <i>Gloeotila subconstricta</i>	16
Şekil 4.3. İzole edilen <i>Penicillium sp</i>	17
Şekil 4.4. İzole edilen <i>A. alternata</i>	18
Şekil 4.5. İzole edilen <i>Botrytis cinerea</i>	19
Şekil 4.6. <i>Gloeotila subconstricta</i> metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde <i>Penicillium sp.</i> üzerine olan antifungal etkisi a. 25 µl metanol ekstraktı, b. 50 µl metanol ekstraktı	20
Şekil 4.7. <i>Gloeotila subconstricta</i> metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde <i>Botrytis cinerea</i> üzerine olan antifungal etkisi a. metanol 25 µl ekstraktı b. metanol 50 µl ekstraktı	20
Şekil 4.8. <i>Gloeotila subconstricta</i> metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde <i>Alternaria alternata</i> üzerine olan antifungal etkisi a. metanol. 25 µl ekstraktı, b. metanol 50 µl ekstraktı	21
Şekil 4.9. <i>Clodophora crispata</i> metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde <i>Penicillium sp</i> üzerine a. metanol 25 µl ekstraktı b. metanol 50 µl ekstraktının antifungaletkisi .21	21
Şekil 4.10. <i>Clodophora crispata</i> metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde <i>Botrytis</i>	

cinerea üzerine olan antifungal etkisi a. metanol 25 µl ekstraktı, b. metanol 50 µl ekstraktı.....22

Şekil 4.11. *Clodophora crispata* metanol ekstraktlarının PDA besiyerinde *Alternaria alternata* üzerine olan antifungal etkisi a. metanol 25 µl ekstraktı b. metanol. 50 µl ekstraktı.....22

Şekil 4.12. Metanolün farklı çözeltilerinin PDA besiyerinde a. *Penicillium sp* b. *Botrytis cinerea* c. *Alternaria alternata* üzerine olan etkisi24



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. <i>Cladophora crispata</i> , <i>Gloeotila subconstricta</i> , Nystatin ve Metanol çözeltilerinin antifungal etkisi (mm).....	23
---	----



SİMGELER ve KISALTMALAR

Simgeler

°C Santigrad Derece

μl Mikrolitre

Mm Milimetre

CO₂ Karbondioksit

Kısaltmalar

ATCC American Type Culture Collection

NaOCl Sodyum Hipoklorit

NY Nystatin

PDA Patates Dekstroz Agar

RPM 1 Dakikadaki devir sayısı

1.GİRİŞ

Yeryüzündeki tüm sucul ortamlarda gelişen algler, biyosferde çok önemli görevlere sahiptir. Algler tatlı, tuzlu ve acı sularda yaşayabilir, bazı türleri ise sıcak-soğuk sularda ve farklı ekstrem habitatlarda da gelişebilirler. Tatlısularda yaşayan algler, lotik (akarsu) ve lentik (durgun su) ekosistemlerindeki bentik ve pelajik habitatlarda bulunurlar. Göllerde yaşayan algler özellikle fotik zonda ve epilimniyon tabakasında geniş yayılım gösterirler (Altuner ve ark., 2003). Nehirlerin bentik ve pelajik habitatlarında da makro ve mikro algler bulunurlar. Nehir pelajik ortamlarında yaşayan algler, genellikle mikroskobiktir türlerdir. Makroalgler, daha ziyade nehirlerin bentik habitatlarından epilitik ve epifitikte yaygın olarak bulunmaktadır (Round, 1984).

Son yıllarda, alglerin farmasötik özelliklerine dünyada olan ilgi artmıştır. Bu organizmalardan elde edilen maddeler, tıp, eczacılık, tarım ve gıda sektörlerinde geniş ölçüde değerlendirilmektedir. Geçtiğimiz yirmi yılda, alglerden elde edilen bu moleküllerin yeni biyolojik aktiviteleri ortaya çıkarılmıştır. Bu doğal moleküller, sadece ilaç etken maddesi olarak değil, sentetik moleküllerin yapımında yapısal birer model olarak da görev almaktadırlar (El-Sheekh ve ark., 2006; Güven ve ark., 2010).

Klasik kemoterapötik bileşikler günümüzde çokça kullanılmakta ve bunun sonucunda da çeşitli dirençlerde bakteri ve fungusların artışı söz konusu olmakta, bu organizmalara karşı uygulanan bileşiklerin kullanımını da yararsız hale getirmektedir. Bu durumda algler ve onlardan elde edilen bileşikler, yeni ve yararlı ilaç ham maddesi içermeleri, üstelik temel bileşenleri bulundurmaları ile daha etkin kullanım göstermektedir (Duke ve ark., 2002).

Alglerin, ürettikleri çeşitli antifungal metabolitler ile fungusların; enzim sistemleri, hücre duvarı yapıları, hücre içindeki protein ve karbonhidrat bileşiklerinin yapıları üzerinde çeşitli olumsuz etkilere sebep olarak küf gelişimini azalttığı; ayrıca, misel gelişimini durdurarak mikotoksin üretimini de düşürdüğü kaydedilmiştir (Hussein ve

Brasel., 2001).

Algler ve mantarlar arasında yukarıda bahsedilen ilişkiler doğrultusunda, küf gelişimi ve mikotoksin üretiminin kontrolü amacıyla, alglerin kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. *Sargassum despiense*, *Turbinaria decurrense*, *Dilophus ligulatus*, *Cystoseira myrica* ve *Padina pavonia* alglerinin *Aspergillus flavus* üzerine olan etkisi çalışılmış ve bu alglerin antifungal özellikleri tespit etmişlerdir (Mabrouk ve ark., 1985).

Amphidinium caterae alginin *Penicillium chrysogenum*, *Cladosporium resinae*, *Geotrichum candidum*, *Candida parapsilosis*, *Chaetomium globosum*, *Mucor mucedo* fungus türleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada funguslar üzerine etkili biyolojik aktivite tespit edilmiştir (Kellam ve ark., 1988).

Chlorella salina, *Tetraselmis chuii*, *Nannochloropsis oculata* alglerinin *Fusarium solani* fungusu üzerine etkisine disk difüzyon yöntemiyle bakılmış ve olumlu sonuçların bulunduğu ifade edilmiştir (El-Kassas ve ark., 1988).

Cystoseira tamariscifolia alginin *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum* fungusları üzerinde yapılan antifungal çalışmada, *C. tamariscifolia* ve *B. cinerea*'nın özellikle *Fusarium* fungusuna karşı olumlu yönde sonuçlar elde edilmiştir (Benmara ve ark., 1998).

Fischerella spp. ve *Stigonema spp.* alglerinin antifungal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Candida kefir* fungus türleri üzerinde etkili sonuçlar elde edilmiştir (Ghasemi ve ark., 2003).

Nostoc sp. alginin çeşitli funguslar üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada ise, *Armillaria sp.*, *Fusarium oxysporum f. melonis*, *Penicillium expansum*, *Phytophthora cambivora*, *Phytophthora cinnamomi*, *Rhizoctonia solani*, *Rosellinia sp.*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium albo-atrum* fungus türlerine karşı olumlu biyolojik aktivite kaydedilmiştir (Biondi ve ark., 2004).

Gracillaria chilensis alg türünün *Phytophthora cinnamomi* fungus türü üzerine antifungal etki denemelerinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Jimenez ve ark., 2011).

Fusarium graminearum fungus türünün kullanıldığı antifungal aktivite çalışmasında *Spirulina* LEB-18 alginin olumlu etkisi tespit edilmiştir (Pagnussatt ve ark., 2013).

Cystoseira tamarisciflora, *Padina pavonica*, *Rhodomela confervoides* ve *Ulva lactuca* alg türlerinin kullanıldığı çalışmada *Aspergillus niger* (939N), *Candida albicans* (ATCC 1024) ve *M. ramanianus* (NRRL 1829) türlerine karşı etkili antifungal aktivite sonuçlarına ulaşılmıştır (Saidani ve ark., 2012).

Hypnea pannosa alginin kullanıldığı *Aspergillus flavus* fungusu ile yapılan antifungal etki çalışması sonucunda olumlu sonuçlara ulaşılmıştır (Ashraf ve Ahmed, 2015).

Sargassum despiense, *Turbinaria decurrense*, *Dilophus ligulatus*, *Cystoseira myrica*, *Padina pavonica* alglerinin yer aldığı antifungal etki denemelerinde kullanılan *Aspergillus flavus* fungusuna karşı olumlu yönde sonuçlara ulaşılmıştır (Mabrouk ve ark., 1985).

Pabuçcu ve Yücer (2022)'in *Spirogyra aequinoctialis*'in farklı çözenler kullanılarak hazırladıkları ekstraktların antibakteriyal ve antifungal etkilerini denedikleri çalışmada, *Candida albicans* üzerinde oldukça etkili antifungal özellik tespit edilmiştir.

Bu çalışmada da, Erzincan ili Karasu Nehri'ndeki bentik habitatlardan izole edilen *Cladophora crispata* ve *Gloeotila subconstricta* (Basionym: *Ulothrix subconstricta*)'nın metanol ekstraktlarının kültür ortamında, *Penicillium* sp., *Alternaria alternata* ve *Botrytis cinerea* fungusları üzerindeki antifungal etkilerinin tespiti amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Alglerin Genel Özellikleri

Algler, ortamda bulunan CO₂ ve suyu, güneş ışığı vasıtasıyla biyokütleyle dönüştürebilen prokaryotik (siyanobakteriler) veya ökaryotik fotoototrofik organizmalardır. Bazı siyanobakteriler ortamdaki azotu fikse edebilme özelliğine sahiptir (Ometto ve ark. 2014).

Algler, tek hücreli veya çok hücreli olabilirler. Bunlar, eşeyli ve eşeysiz üreme ile çoğalabilme özelliği gösterirler ve yeryüzündeki tüm sucul ve nemli ortamlarda yaşayabilirler (Brodie, J. ve ark., 2017).

Algaebase veri tabanındaki taksonomik kategorizasyona göre, algler iki Üst Âlem, yani Empire içinde dâhil edilmişlerdir. Bu âlemler içindeki Bölümler (Divisio/Filum) aşağıda verilmiştir (Guiry ve Guiry, 2023). **1. Empire (Üst Âlem): PROKARYOTA**

Âlem: Eubacteria

Filum (Divisio): Cyanobacteria

2. Empire: EUKARYOTA

Âlem: Chromista

Filum (Divisio): Miozoa

Filum (Divisio): Bacillariophyta

Filum (Divisio): Ochrophyta

Classis: Phaeophyta

Filum (Divisio): Cryptophyta

Filum (Divisio): Haptophyta

Âlem: Plantae Bitkiler Alemi

Filum (Divisio): Chlorophyta

Filum (Divisio): Charophyta

Filum (Divisio): Glaucophyta

Filum (Divisio): Rhodophyta

Filum (Divisio): Tracheophyta

Âlem: Protozoa

Bölüm: Euglenophyta (Guiry ve Guiry, 2023).

2.2. Çalışılan Fungusların Genel Özellikleri

Penicillium, saprofitik mantarlardandır. Genellikle bitki, meyveler üzerinde çürükçül olarak enfekte olur. Ascomycota Bölümü funguslardandır. Genellikle mavi veya yeşil küf olarak bilinir. Peynir, organik asitler ve antibiyotik üretimi için ekonomik açıdan önemlidirler. Ekosistemde ayrıştırıcı olarak görev yapar. Penisilin antibiyotiği, *Penicillium* sp.'den ekstrakte edilen en önemli antibiyotiklerden biridir (Anonim 1).

Alternaria, Ascomycota bölümüne ait bir genustur. *Alternaria* türlerinin çoğu saprobiktir, bu da çeşitli organik maddelerin ayrışmasında büyük ölçüde yer aldıkları anlamına gelmektedir. Bu nedenle, bu türlerin büyük bir çoğunluğu organik madde ve su (veya nem) bulunan ortamlarda bulunabilir. Bazı türler endofitiktir, yani tohum ve meyvelerde, ekinlerin çeşitli kısımlarında yaşarlar bitkinin mezofiline nüfuz ederek yaşarlar. Ayrıca hayvanlarda hastalığa neden olan patojenik özelliktedir. *Alternaria*; yağlı tohumlar, tahıllar, meyve ve sebzelerde bozulmaya neden olan mikotoksik bir mikrofungustur. Gıdalarda yanıklık, siyah çürüklük şeklindeki bozulmalara neden olmaktadır. Düşük sıcaklıklarda gelişim göstermesinden ötürü, depolanmış ürünlerde bozulmalara ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Günümüzde *Alternaria* genusuna ait türlerin 70 'den fazla sekonder metabolit ürettiği

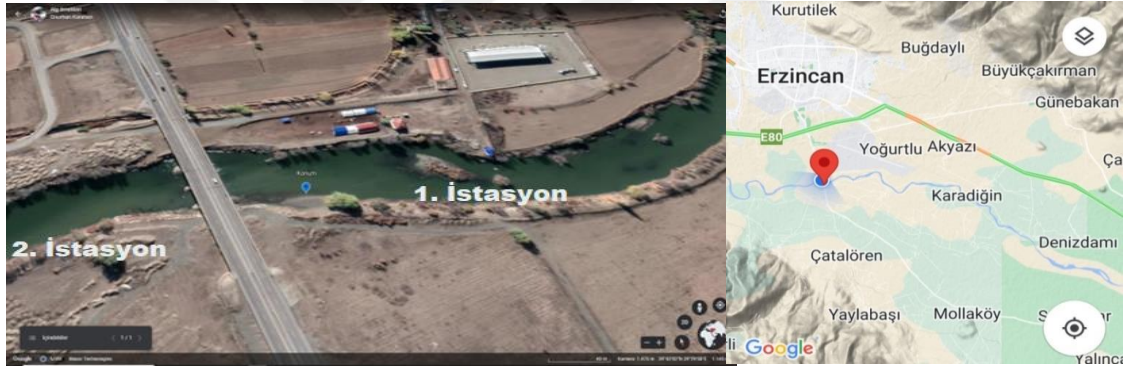
ifade edilmektedir. Bunların bazıları insan sağığına olumsuz etkiler meydana getirmektedir (Kaya ve Zorba, 2021).

Botrytis, önemli bir bitki patojenidir. Çoğu, soğanlı bitkileri (örneğin soğan, laleler , zambaklar) enfekte ederken, bir kısmı ise baklagiller (örneğin fasulye, mercimek, yonca) de patojendi. Birkaç tür dışında çoğu sınırlı ekonomik öneme sahiptir. En yaygın bitki patojeni olan *Botrytis cinerea*, son derece geniş bir yelpazede soğanlı, sebze, meyve, çiçek, lifli ve yağlı tohumlu ürünlerde, yalnızca tarlada ve serada değil, aynı zamanda depolama ve nakliye sırasında da çok büyük hasarlara neden olur. Enfeksiyon öncelikle yaşlanmış veya zarar görmüş bitki dokularında olur. Üzümde patojenite diğer bitkilere göre nispeten kısıtlıdır (Jackson, 2014). **3.**

MATERYAL VE YÖNTEMLER

3.1 Çalışma Alanı ve Alglerin izolasyonu:

Karasu Nehri, Fırat Nehri'nin ana kolu olup, Erzurum Ovası'ndaki Dumlupınar Dağları'ndan doğar. Buradan Aşkale ilçesine akarak Karasu vadisi denilen bölgeden Erzincan'ın Mercan beldesine girer. Keban yakınlarında Murat Nehri ile birleşerek, Fırat Nehri'ni oluşturur. Keban Barajı'na kadarki uzunluğu 460 km'dir (Anonim 1). Erzincan sınırları içindeki Karasu Nehri'nin bentik ve pelajik habitatlarında yaşayan makroalglerin elde edilmesi amacıyla alınan su örnekleri, litrelik plastik kaplarla laboratuvar ortamına getirildi. Bu habitatlardaki türler içinden seçilen bazı algler, ışık mikroskobu altında incelendi ve uygun algler seçildi. Bu işlemlerde mekanik izolasyon yöntemi uygulandı (Andersen, 2005).



a



b

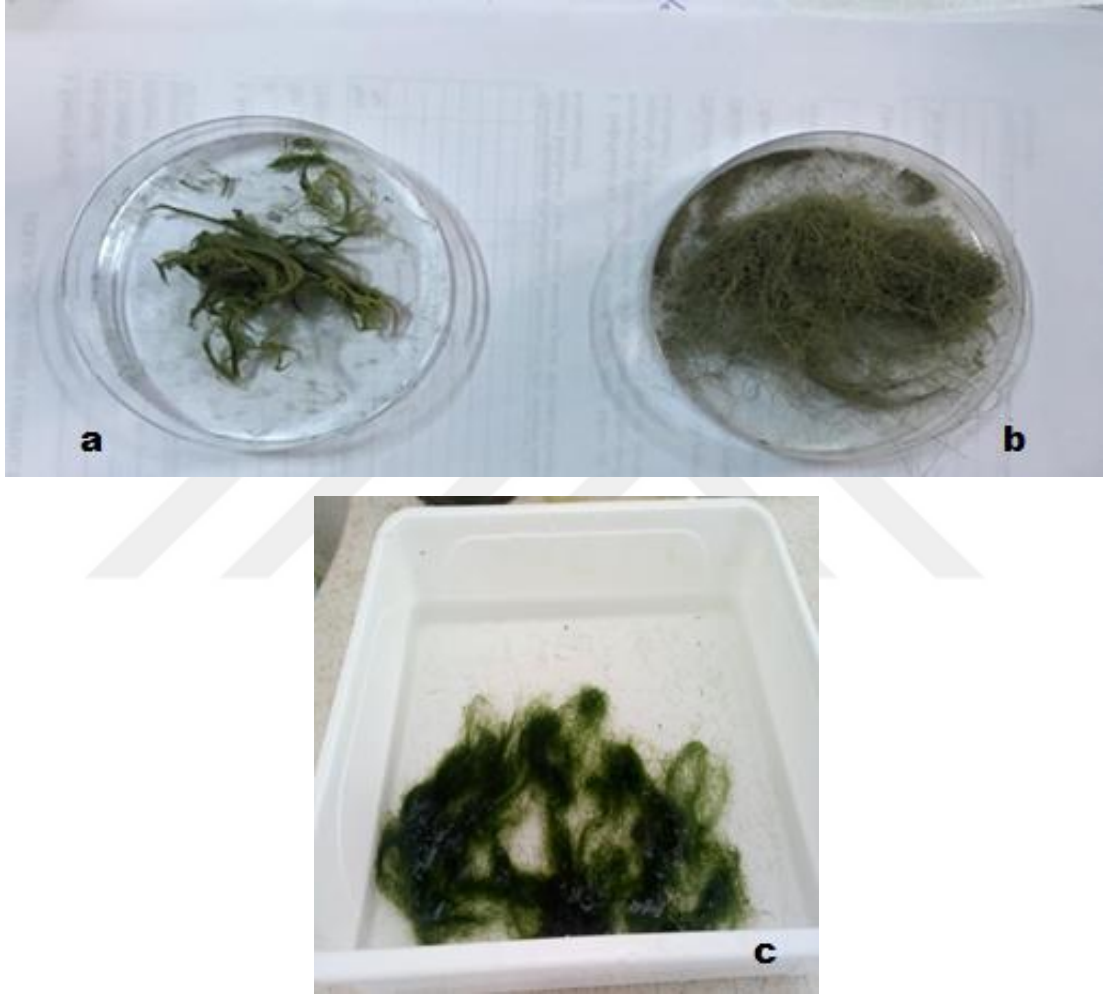


c

Şekil 3. 1. Alglerin İzole Edildiği İstasyonlar a. İstasyon Haritaları b. 1. İstasyon
c. 2. İstasyon

3.2. Alglerin Teşhisleri

İzole edilen alglerin teşhisleri, geçici preparatlarla Zeiss Primo Star ışık mikroskopunda yapılmış, fotoğrafları alınmıştır. Alglerin teşhisi için ilgili kaynaklardan istifade edilmiştir (Chapmann 1973; Findlay 1979; Prescott 1973; 1975; Lund-Lund 1995; Guiry-Guiry, 2022).



Şekil 3.2. Petri Kapları İçinde (a) *Cladophora crispata* (b) *Gloeotila subconstricta* ve (c) Küvette İzolasyon Aşamasındaki Algler

3.3. Fungusların İzolasyonu ve Hazırlanması

Çalışmada kullanılmak amacıyla Erzincan Kilimli Köyü üzüm bağlarından fungus türleri izole edildi ve çalışmada kullanıldı. Fungusların izolasyonunda mekanik izolasyon yöntemi kullanıldı (Campbell ve ark., 2013).

Erzincan Kilimli Köyü asma bitkilerinden alınan hastalıklı yaprak, sürgün ve salkım örnekleri kâğıda sarılıp, polietilen torbalara konularak etiketlendi ve laboratuvara getirildi. Laboratuvara getirilen hastalıklı asma örnekleri önce çeşme suyunda yıkanarak kaba kalıntılarından arındırıldı.

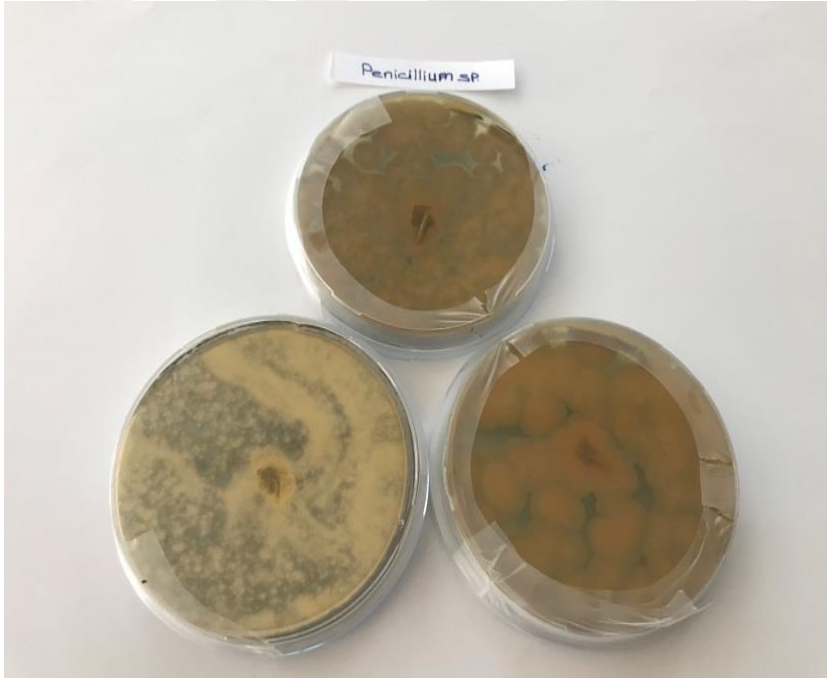
Tipik renk değişikliğine sahip, nekrotik lekelenmeler gösteren asma doku örneklerinden, hasta ve sağlam dokuyu birlikte içerecek şekilde yüzey ve iç dokulardan kesilen 0,5 cm'lik parçalar, %1'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) içinde, doku özelliğine göre 1-2 dakika bekletilerek yüzeysel dezenfeksiyona tabi tutuldu. Daha sonra steril edilmiş saf sudan geçirilip, steril kurutma kağıdında kurutulan parçalar, (laminar flow) güvenli kabinde, streptomisin sülfat (50 µg ml/l) eklenmiş Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Darmstad, Germany) içeren petrilere (dörder adet) ekildi. Ekim yapılan petrilere 24°C'de 7 gün inkübasyona bırakıldı.

Gelişen fungal kolonilerin uç kısmından alınan miselyum parçaları yeniden PDA besi ortamı bulunan petrilere aktarılacak suretiyle saflaştırma yapıldı. Saf kültürler 24°C'de 12 saat ışıık ve 12 saat karanlık döngüde inkübasyona bırakıldı ve saf fungal kültürler elde edildi.

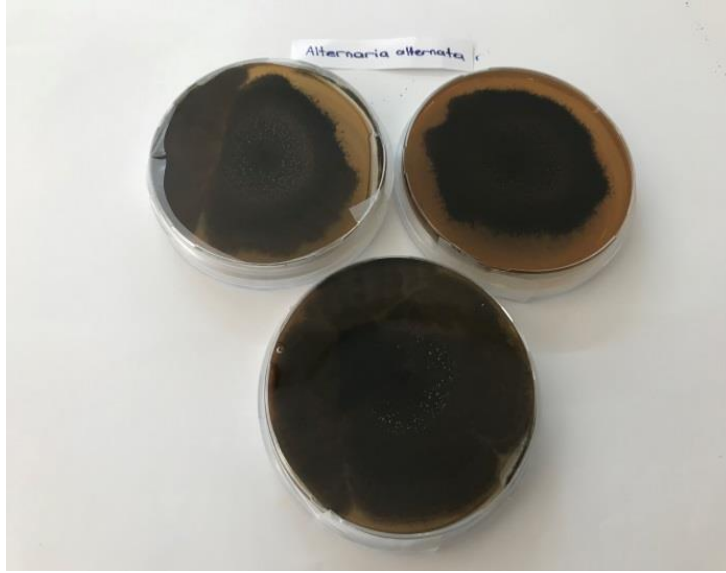
Elde edilen saf fungal kültürler makroskobik (koloni yapısı ve rengi) ve mikroskobik (sporların biçim ve boyutları) incelenerek teşhis edildiler. Yapılan bu çalışmada *Botrytis cinerea*, *Penicillium* sp. fungusları tanımlanmıştır (Campbell ve ark 2013).



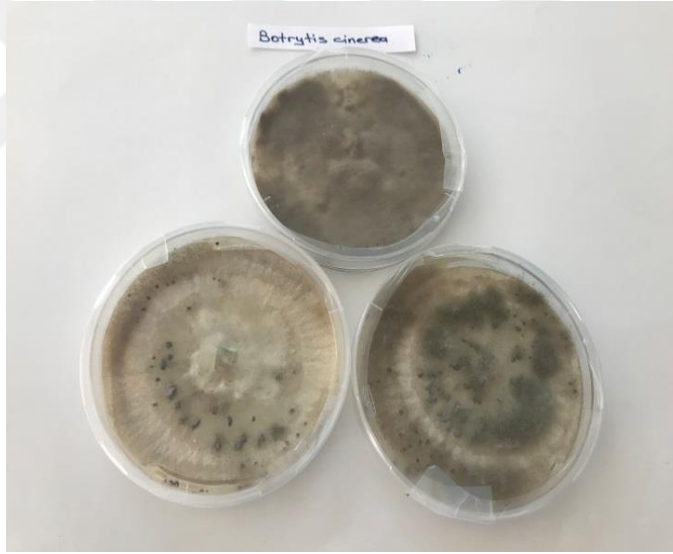
Şekil 3.3. Erzincan Siyah Üzümünden Fungus İzolasyonu (a,b)



Şekil 3.4. Doğadan İzole Edildikten Sonra Kültür Ortamında Üretilen *Penicillium sp.* Petri Kaplarında



Şekil 3.5. Doğadan İzole Edildikten Sonra Kültür Ortamında Üretilen *Alternaria alternata*



Şekil 3.6. *Botrytis cinerea*

3.4. Alg ekstraktlarının hazırlanması

Antifungal aktivite deneyleri için, izole edildikten sonra kurutulan algler porselen krozede iyice dövüldükten sonra üzerine çözgen ilave edildi. Daha sonra, 1 saat oda sıcaklığında ekstrakte edilip, 13.000 rpm’de 3 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar en fazla 48 saat olacak şekilde kullanılıncaya kadar +4 °C’de

muhafaza edildi (Andersen, 2005).

3.5. Antibiyotik Diskler

Medikal ticaretlerden alınan antibiyotik disklerle, yukarıda ifade edildiği şekliyle hazırlanan alg ekstraktları, 10 µl ve 20 µl oranlarında uygulanarak petri ortamındaki fungus kültürlerine inoküle edildi.



Şekil 3.7. Sterilizasyon, Antibiyotik Disklere Ekstrakt İlavesi ve Petrilerin Hazırlanması

3.6. Antifungal Testler İçin Agar Besiyerlerinin Hazırlanması

Antifungal çalışma için hazırlanan besiyeri olarak Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Darmstad, Germany) kullanıldı. 1 Litre ılık distile suya 40 gr. Malt ekstrakt agar ilave edilerek çözüldü. Daha sonra petri kaplarıyla birlikte otovlavda steril edildi. Güvenli kabinde soğuma ve kurumaya bırakıldı. Daha sonra inokülasyon işlemi yapıldı.

3.7. Antifungal Aktivite için test mikroorganizmalarının Besiyerlerine İnokülasyonu

Hazırlanan Malt Ekstrakt Agar besiyerine mikroorganizma inokülasyonu için, süspansiyonuna steril eküvyon daldırıldıktan sonra, besiyerinin her yerine eküvyonla süspansiyon yayıldı. Mikroorganizma süspansiyonu yayılan petriler, diskler uygulanmadan önce 5 dk. Kurumaya bırakıldıktan sonra diskler en geç 10 dk içinde uygulandı. Nystatin antifungal diskler, kontrol grubu için kullanıldı.

3.8. Ekim Grupları

Alg Ekstrakt-Metanol Grubu: Bunun için den Metanol değişik miktarlarda (10 µl, 20 µl) hazırlanmış ekstraktlardan antibiyotik disklerle emdirilip triplet olarak denemeler yapıldı

Nystatin Pozitif Kontrol Grubu: Antifungal etkisi bilinen Nystatin diskler pozitif kontrol grubu olarak petriler içine yerleştirilme ve inhibisyon zonları ölçüldü.

Metanol-Negatif kontrol Grubu: Bunun için fungusların ekildiği petrilere alg olmadan yalnızca Metanol emdirilmiş antibiyotik disk yerleştirildi. Triplet olarak yapıldı (Pagnusatt ve ark., 2013).

3.9.Ölçümler

Antibiyotik disklerin etrafındaki halkalar kumpas ya da cetvel yardımıyla milimetrik olarak ölçülüp kaydedildikten sonra fotoğrafları çekildi (Pagnusatt ve ark., 2013).

4. BULGULAR

4.1. İzole Edilen Algler

Karasu Nehri (Erzincan)'den *Cladophora crispata* ve *Gloeotila subconstricta* izole edilmiştir. *Gloeotila subconstricta*, basionim olarak *Ulothrix subconstricta* şeklinde isimlendirilmektedir (Guiry-Guiry, 2023). İzole edilen türlere ait bilgiler ve mikroskop fotoğrafları aşağıda verilmiştir (Şekil 4.1-2).

4.1.1. *Cladophora crispata* (Roth) Kützinger 1843

C. crispata hem tatlısullarda hem de denizde yaşayan bir türdür (Deniz Candan ve Taş, 2014, Guiry-Guiry, 2022). İpliksi alglerden olan bu tür, yan dalcıklar çıkaran alglerdendir. Filament çapı, uç kısımlara doğru gidildikçe konik olarak bir azalma gösterir. Hücreler, silindirik kloroplastlar içerir ve diskoid yapıdadır. Hücre çeperinde ağırlıklı olarak nişasta bulunur. Bunun dışında ince bir müsilaj tabakası bulunmaktadır. Eşeyli üreme diplohaplont ve izomorfiktir. Genellikle eşeysiz üreme görülür. Eşeysiz üreme, zoosporlar ya da thallusun parçalanmasıyla gerçekleşir (Guiry-Guiry, 2022).

Taksonomik kategorizasyonu:

Empire (Üst Âlem): Eukaryota

Kingdom (Âlem): Plantae

Subkingdom (Alt Âlem): Viridiplantae

Phylum (Divisio): Chlorophyta

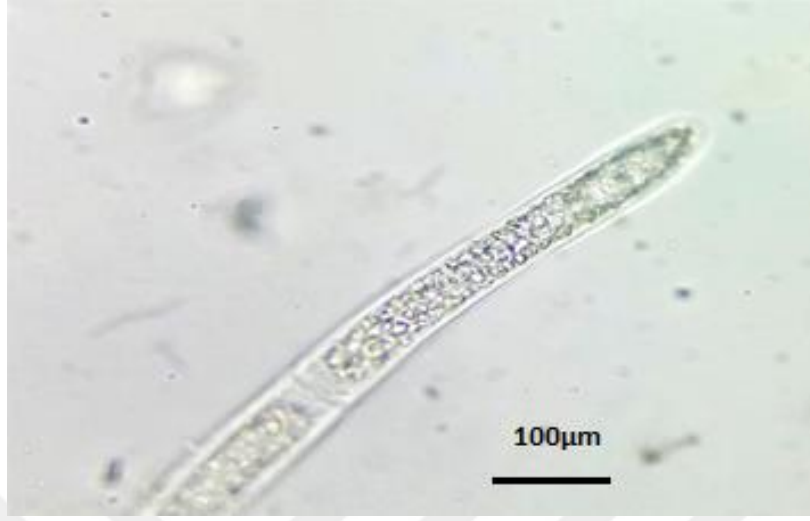
Class (Sınıf): Ulvophyceae

Order (Ordo): Cladophorales

Family: Cladophoraceae

Genus: *Cladophora*

Species: *Cladophora crispata* (Şekil 4.1).



Şekil 4.1 *Cladophora crispata*

4.1.2. *Gloeotila subconstricta* (G. S. West) Printz (Basionym: *Ulothrix subconstricta* G.S. West, 1964)

Filamentler sarkık, temelde dallanmamış ve tek sıralı değildir. Hücreler her zaman birbirine yapışık şekildedir. Hücreler, Basit veya rizoidal bazal hücrelerle, bazen hem interkalar hem de apikal ve çıkıntı yapan rizoidal büyümelerle bağlanma gösterir. Kloroplastlar tek, parietal, kuşak şeklindedir. Hücre çevresini kısmen veya tamamen çevrelemektedir. Olgun hücrelerde nişasta, yağ benzeri ve volutin birikir. Eşeyli ve eşeysiz üreme görülür. Daha ziyade eşeysiz olarak ürerler. Bunlar, dört kamçılı zoosporlar vasıtasıyla olur. Özellikle ılıman ve soğuk bölgelerde geniş ekolojik dağılım gösterirler ve kozmopolittirler.

Genellikle birkaç cm uzunluğunda ipliksi şeritler oluşturur ve geniş popülasyonlar teşkil ederler ve değişen boyutlarda tutamlar veya hasırlar oluştururlar. Ötrofik göl kıyıları, dere kıyıları, kanallar ve nehirler gibi havalandırılmış tatlı su bölgelerinde bulunur, hendek, havuz gibi durgun sularda daha az bulunurlar. Bataklık yaşam alanlarında neredeyse hiç yoktur (Guiry-Guiry, 2022).

Taksonomik kategorizasyonu:

Empire: Eukaryota

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Viridiplantae

Phylum: Chlorophyta

Class: Trebouxiophyceae

Ordo: Chlorellales

Family: Chlorellaceae

Genus: Gloetila

Species: *Gloetila subconstricta*



Şekil 4.2 *Gloetila subconstricta*

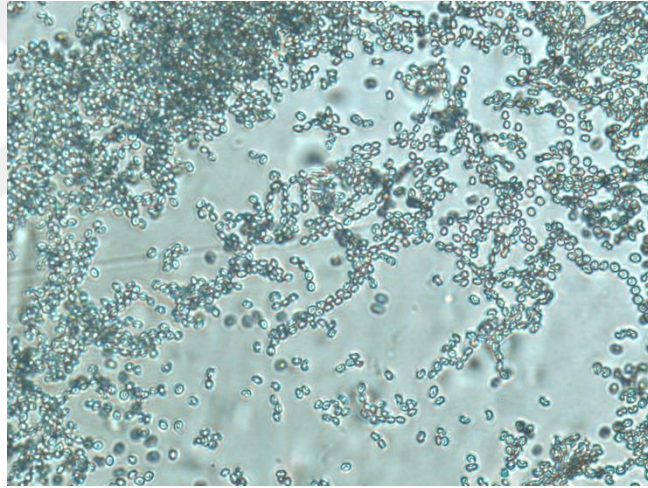
4.2. İzole Edilen Funguslar

4.2.1. *Penicillium* sp.

Penicillium fungusundan önemli bir antibiyotik olan penisilin elde edilir. Mavi-yeşil renkte bir hif ve spor özelliği gösterir. Konidiumları yuvarlak hücrelerden oluşmuştur. Üremeleri eşeysizdir. Konidi ve sterigmaların durumlarına göre türler

teşhis edilir. Saprofit olarak genellikle meyve ve peynir üzerinde yerleşir. *Penicillium*, başlangıçta beyazdır ve zamanla mavi-yeşil, gri-yeşil, zeytin-gri, sarı veya pembemsi hale gelir (Torelli ve ark, 2006).

Domain: Eukaryota
Kingdom: Fungi
Phylum: Ascomycota
Class: Eurotiomycetes
Order: Eurotiales
Family: Trichocomaceae
Genus: *Penicillium* (Anonim, 1)



Şekil 4.3. İzole edilen *Penicillium* sp.

4.2.2. *Alternaria alternata* (Fries) Keissler

Sesli ve ark. (2020), *Alternaria alternata* 'ya Türkçe isim olarak 'Astımküfü' ismini uygun görmüştür. Domates, elma, çilek, şeftali, tahıl ürünleri, zeytin, fındık ve yağlı tohumlar gibi gıda ürünlerinde siyah çürükçül hastalığa neden olmaktadır (Ostry ve ark., 2007). Saprofit olarak dünyada çok yaygın ve dominant bir türdür (Hyang ve ark., 2015). Gravesen ve ark. (1994), bu türün büyümesi en çok gelişim gösterdiği optimum sıcaklığın 25-28°C, pH 4-5,4 aralığında olduğunu tespit etmiştir. *Alternaria*,

genusu, 700'den fazla türe sahiptir. *Alternaria* türleri, genellikle bitki patojenleri ve hasat sonrası patojenler olarak bilinirler ve önemli ürün kayıplarına neden olurlar (Lawrence ve ark., 2013, Kaya ve Zorba 2021).

Domain: Eukaryota

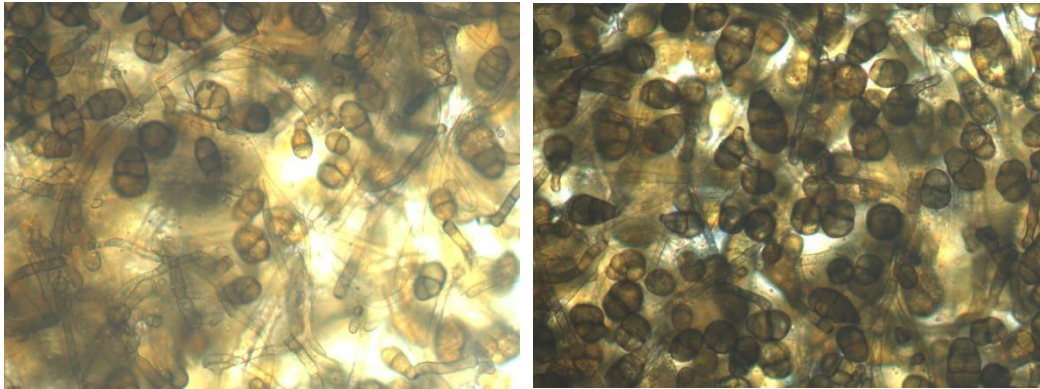
Kingdom: Fungi

Filum: Deuteromycota

Sınıf: Hyphomycetes

Genus: *Alternaria*

Tür: *A. alternata* (Hibbet ve Taylor, 2013)



Şekil 4.4. İzole Edilen *A. alternata*

4.2.3. *Botrytis cinerea* Pers. (Kurşuni Küf)

Botrytis cinsinin üyeleri genellikle nekrotrofik patojenlerdir; hücresel besinlere erişmek için konakçı hücre ölümüne ve parçalanmasına neden olurlar. *B. cinerea* 200'den fazla bitki türünde gri küf hastalıklarına neden olur. Ayrıca fungusit direnci geliştirme eğiliminden dolayı, bilimsel olarak ve tarımsal açıdan büyük öneme sahiptir. *B. cinerea*'nın konukçu yelpazesi geniştir, aynı zamanda konidileri ve sklerotia adı verilen küçük sertleşmiş misel kitleleri uzun süre hayatta kalabilme yeteneğine sahiptir bir patojendir (Uysal ve Erkılıç 2022).

Domain : Eukarya

Alem : Fungi

Filum : Ascomycota

Sınıf : Leotiomycetes

Ordo : Helotiales

Familya : Sclerotiniceae

Cins : Botrytis

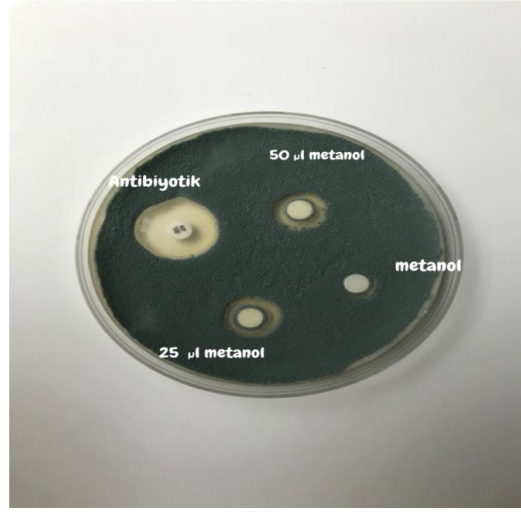
Tür : *Botrytis cinerea* Pers



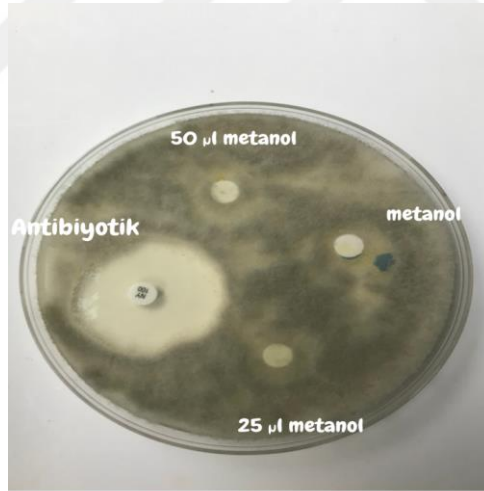
Şekil 4.5. İzole Edilen *Botrytis cinerea*

4.3. Antifungal Sonuçlar

Bu çalışmada, *Cladophora crispata*, *Gloeotila subconstricta* örneklerinin metanol (25µl ve 50 µl) çözücülerıyla oluşturulan tampon ekstraktları, *Penicillium sp*, *Botrytis cinerea* ve *Alternaria alternata* kültürlerine inoküle edilmiş, oluşan inhibisyon zonları kumpas ve milimetrik kağıtla ölçülerek şekil ve tablolarda sunulmuştur (Tablo 4.1-3, Şekil 4.3-4.11).



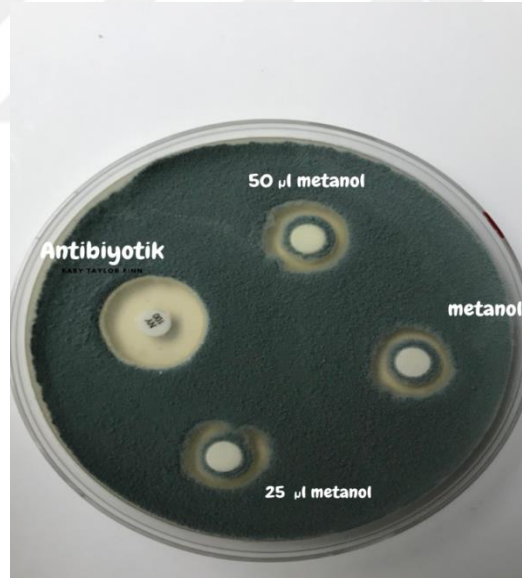
Şekil 4.6 *Gloeotila subconstricta* metanol ekstraktlarının PDA Besiyerin *Penicillium* sp. Üzerine Olan Antifungal Etkisi a. 25 µl Metanol Ekstraktı, b. 50 µl Metanol Ekstraktı.



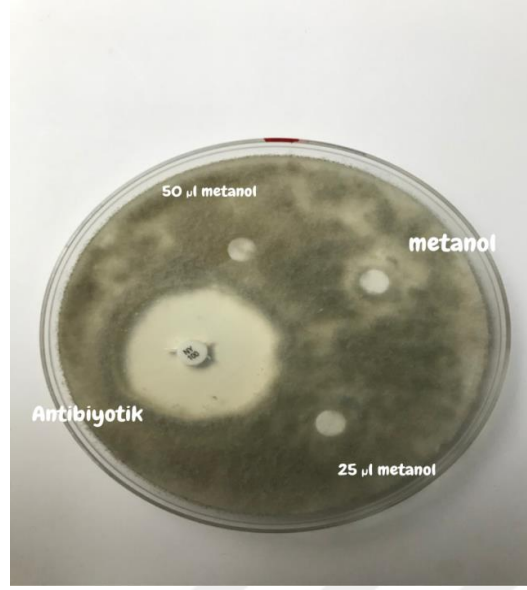
Şekil 4.7. *Gloeotila subconstricta* Metanol Ekstraktlarının PDA Besiyerinde *Botrytis cinerea* Üzerine Olan Antifungal Etkisi a. Metanol 25 µl Ekstraktı b. Metanol 50 µl Metanol Ekstraktı.



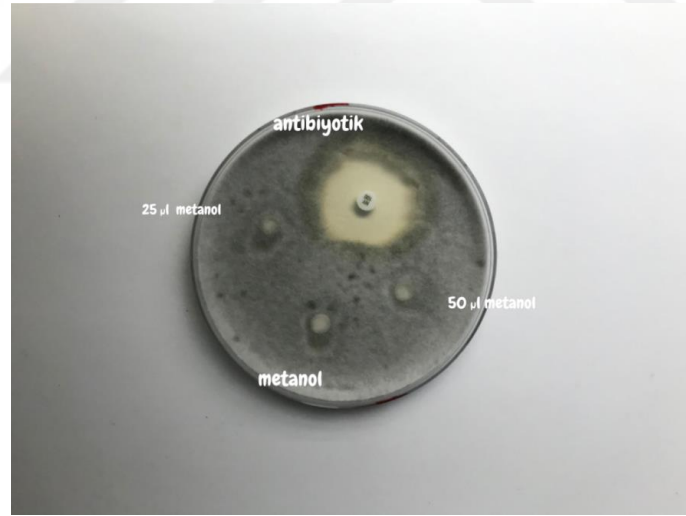
Şekil 4.8. *Gloeotila subconstricta* Metanol Ekstraktlarının PDA Besiyerinde *Alternaria alternata* Üzerine Olan Antifungal Etkisi a. Metanol. 25 µl Ekstraktı, b. Metanol 50 µl Ekstraktı.



Şekil 4.9. *Clodophora crispata* Metanol Ekstraktlarının PDA Besiyerinde *Penicillium sp* Üzerine a. Metanol 25 µl Ekstraktı b. Metanol 50 µl Ekstraktının Antifungal Etkisi



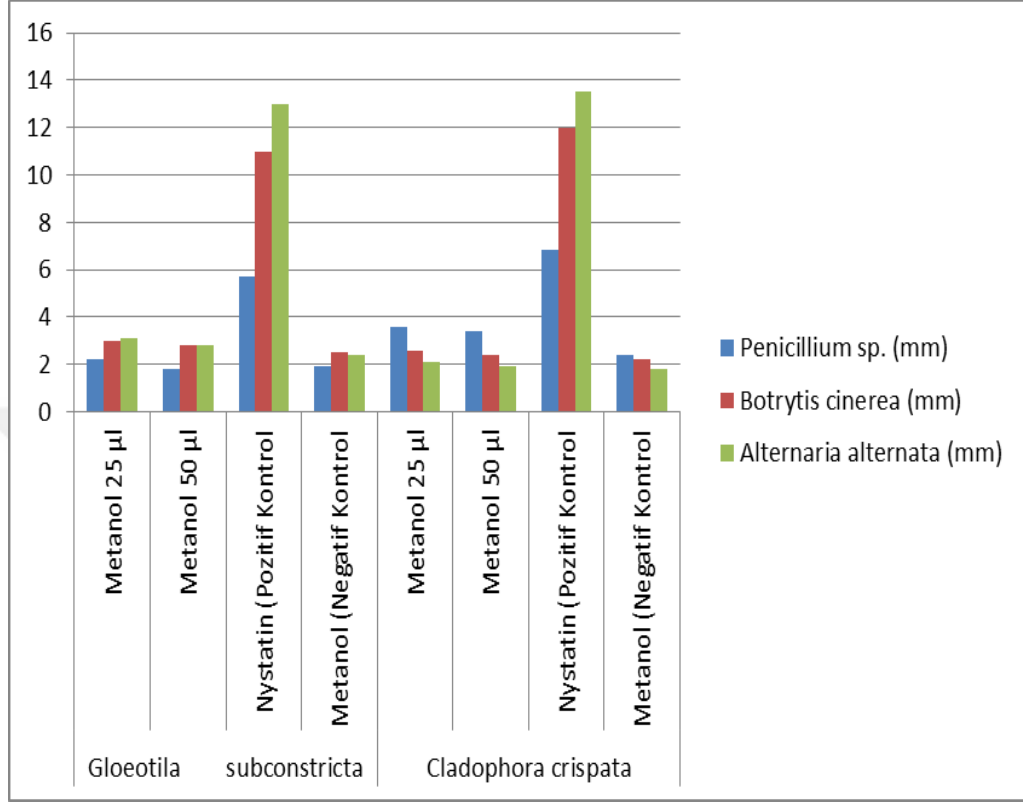
Şekil 4.10. *Clodophora crispata* Metanol Ekstraktlarının PDA Besiyerinde *Botrytis cinerea* Üzerine Olan Antifungal Etkisi a. Metanol 25 µl Ekstraktı, b. Metanol 50 µl Ekstraktı



Şekil 4.11. *Clodophora crispata* Metanol Ekstraktlarının PDA Besiyerinde *Alternaria alternata* Üzerine Olan Antifungal Etkisi a. Metanol 25 µl Ekstraktı b. Metanol. 50 µl Ekstraktı

Tablo 4.1. *Gloeotila subconstricta* ve *Cladophora crispata*'nın Antifungal Etki Tablosu

Alg Türleri	Metanol Çözeltileri, Pozitif ve Negatif Kontrol Grupları	<i>Penicillium</i> <i>sp.</i> (mm)	<i>Botrytis</i> <i>cinerea</i> (mm)	<i>Alternaria</i> <i>alternata</i> (mm)
<i>Gloeotila</i> <i>subconstricta</i>	Metanol 25 µl	2,25	3	3,1
	Metanol 50 µl	1,8	2,8	2,8
	Nystatin (Pozitif Kontrol	5,72	11	13
	Metanol (Negatif Kontrol	1,9	2,5	2,4
<i>Cladophora</i> <i>crispata</i>	Metanol 25 µl	3,6	2,6	2,1
	Metanol 50 µl	3,4	2,4	1,9
	Nystatin (Pozitif Kontrol	6,86	12	13,5
	Metanol (Negatif Kontrol	2,4	2,2	1,8



Şekil 4.12. *Cladophora crispata*, *Gloeotila subconstricta*'nın Antifungal Etki Grafiği

5. TARTIŞMA

Algler, antiviral, antitümör ve antiinflamatuvar özelliklere sahip biyolojik olarak aktif bileşiklerin zengin kaynaklarıdır ve ayrıca bitki büyüme uyarıcıları veya antioksidan ajanların kaynaklarıdır. Bazı alglerden elde edilen bileşenlerin, insanda kardiyovasküler sistemi sağlığının korunmasına yardımcı olduğu, aynı zamanda anti-inflamatuvar, antikoagülan, antiviral, antibakteriyel, antifungal ve pekçok özellik gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmaktadır (Pirian ve ark, 2018). Dolayısıyla alglerdeki aktif bileşenler, insan vücudundan zararlı elementlerin uzaklaştırabileceği ve yara iyileştirici özelliğe sahip olacağı, kandaki hemoglobin konsantrasyonunu artırabildiği, kan şekeri seviyesini azaltabildiği ve hipotansif aktiviteler sergileyebildiği yapılan çalışmalarda kaydedilmiştir (Stepanova E.M. ve ark., 2021).

Cladophora crispata ve *Gloeotila subconstricta*'nın farklı oranlardaki metanol ekstraktlarının *Penicillium sp*, *Botrytis cinerea* ve *Alternaria alternata* üzerinde antifungal etkisinin disk difüzyon yöntemiyle denendiği bu çalışmada, alg ekstraktlarının özellikle *B. cinerea* ve *A. alternata* üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Çalışmada *Penicillium sp*. en dirençli organizma, *B. cinerea* ise en duyarlı organizma olarak kaydedilmiştir. (Tablo 4.1, Şekil 4.13).

Nagai ve arkadaşlarının Dinoflagellatlardan elde edilen 12 poliyeter bileşiği, bazı fungus ve bakteriler üzerine disk difüzyon yöntemiyle denedikleri araştırmada, *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *Candida rugosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı büyümeyi inhibe edici aktiviteler gözlemlemiştir. Özellikle okadaik asitin güçlü antifungal aktivite gösterdiği ifade edilmiştir (Nagai ve ark., 1990).

C. crispata'nın 25µl metanol ekstraktının *B. cinerea* ve *A. alternata* üzerinde en çok antifungal etkiye sahip olduğu ve orta düzeyde etki gösterdiği tespit edilmiştir. *G. subconstricta*'nın da ona yakın bir etki gösterdiği inhibisyon zonlarından tespit edilmiştir (Tablo 4.1, Şekil 4.13).

Bonjouklian ve arkadaşlarının yaptıkları antifungal aktivite çalışmasında, bazı mavi-

yeşil alg ekstraktlarının kullanılmış ve *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*'a karşı orta düzeyde sonuçlar elde edilmiştir (Bonjouklian ve ark., 1991).

Saleh ve Al-Mariri (2017)'nin yaptıkları çalışmada, *Halimeda sp.*'nin antifungal aktivitesi incelenmiştir. Çalışmada kullanılan alg, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* 'e karşı antifungal aktivite göstermiştir.

Pabuçcu ve Yücer'in 2022 yılında yaptıkları *Spirogyra aequinoctialis*'in *Candida albicans* ATCC 10239'a karşı antifungal aktivite çalışmasında, Etanolle hazırlanan ekstraktlarda inhibisyon zonları 8.0–14.0 mm oranlarında gözlenmiş ve etkili bir biyoaktivite kaydedilmiştir. Çözgenlerden N-Butanol ekstraktında herhangi bir etki gözlenmemiştir (Pabuçcu ve Yücer, 2022).

Bu çalışmada kullanılan Metanol ekstraktlarında seçilen funguslara karşı 0.10-7.00 mm aralığında inhibisyon zonları tespit edilmiş ve algler orta ve üzerinde antifungal etki göstermiştir. Alglerin funguslara karşı gösterdiği antifungal etkiler Şekil 4.6-4.13'de ve Tablo 1'de gösterilmiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Fungal enfeksiyonlar, toplumda ve özellikle tarımsal alanlarda sıkça görülen hastalıklardan olup, tedavi aşaması uzun sürmekte ve aynı zamanda yüksek maliyet gerektirmektedir. Bu gibi enfeksiyonlar, insanların ve tarımsal ürünlerin yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Fungal enfeksiyonların tedavisi için kullanılan antifungaller sınırlı düzeyde kalmakta, dolayısıyla yeni bileşiklere de her geçen gün ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada kullanılan alglerin orta ve nispeten üzerinde antifungal aktivite göstermesi, onlardan sorumlu metabolitlerin izolasyonu önemli kılmaktadır. Metabolit ve etken madde izolasyonu için aksenik alg kültürlerinin oluşturulması ve onların kitlesel üretimlerinin gerçekleştirilmesi ve farmasötik açıdan değerli bir ürüne dönüştürülmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Altuner, Z., Pabuçcu, K. Türkekul, İ., (2002). Tohumuz Bitkiler Sistematiği 1. Cilt. Altan Matbaacılık, s. 105, Ankara
- Andersen, R. A. (2013). Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology, Second Edition, Edited by Amos Richmond and Çiang Hu. John Wiley & Sons, Ltd. by Blackwell Publishing Ltd.
- Anonim 1. 2023, Penicillium taxonomy, <https://byjus.com/neet/penicillium/>
- Ashraf, M., AHMED, S. 2015. Antifungal activity of Hypnea pannosa J Agardh against Aspergillus flavus, Int. J. Phycol. Phycochem, 11.1: 1-4.
- Babich O, Sukhikh S, Larina V, Kalashnikova O, Kashirskikh E, Prosekov A, Noskova S, Ivanova S, Fendri I, Smaoui S, 2022, Algae: Study of Edible and Biologically Active Fractions, Their Properties and Applications, *Plants* 11, 780.
- Bennamara, A, ve ark. 1999. Methoxybifurcarenone: an antifungal and antibacterial meroditerpenoid from the brown alga *Cystoseira tamariscifolia*. *Phytochemistry*, 52.1: 37-40.
- Biondi, N., ve ark. 2004. Evaluation of Nostoc strain ATCC 53789 as a potential source of natural pesticides. *Applied and environmental microbiology*, 70.6: 3313-3320.
- Bonjouklian, R., Smitka, T. A., Doolin, L. E., Molloy, R. M., Debono, M., and Shaffer, S. A. (1991). Tjipanazoles, new antifungal agents from the blue-green alga *Tolypothrix tjipanasensis*. *Tetrahedron* 47, 7739–7750. doi: 10.1016/S0040-4020(01)81932-3

- Brodie J, Chan C. X, De Clerck O, Cock J. M, Coelho S. M, Gachon C, Grossman A. R, Mock T, Raven J.A, Smith A.G, 2017, The algal revolution. Trends Plant Science 22, 726–738.
- Chapmann, C. 1973, “The algae” Macmillan Press, London (ISBN 978-1-349-27910-4, eBook).
- Deniz Candan E, Taş B, 2014, Melet Irmağında (Ordu) *Cladophora crispata*’da bazı ağır metal düzeyleri, Journal of Fisheries Sciences, 8(2): 104-113
- Duke, J.A., (2002), Bogenschutz-Godwin, M.J., Duke, P.A., Ducey, J., Handbook of Medicinal Herbs., Second Edition, CRC press LLC, Printed in USA
- El-Kassas, H. Y., ve ark. 2009. A trial for biological control of a pathogenic fungus (*Fusarium solani*) by some marine microorganisms. Am-Euras J Agric Environ Sci, 5: 434-440.
- El-Sheekh, M.M., Osman, M.E.H., Dyab, M.A., Amer, M.S., (2006) Production and characterization of antimicrobial active substance from the cyanobacterium *Nostoc muscoru*, Environmental Toxicology and Pharmacology, 21: 42-50
- Findlay, D, L.H.J, 1979, A Species List and Pictorial Reference to the Phytoplankton of Central and Northern Canada, Part I-II. Fisheries and Marine Serv. Manuscript, R. 1503.
- Findlay, D, L.H.J, 1979, A Species List and Pictorial Reference to the Phytoplankton of Central and Northern Canada, Part I-II. Fisheries and Marine Serv. Manuscript, R. 1503.
- Ghasemi, Y., ve ark. 2003. Antifungal and antibacterial activity of paddy-fields cyanobacteria from the north of Iran. Journal of Sciences Islamic Republic of Iran, 14.3: 203-210.
- Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2022. *Algaebase*. World-Wide Electronic Publication, National University Of Ireland, Galway. [Http://www.algaebase.org](http://www.algaebase.org)

- Hibbett DS and Taylor JW, 2013, Fungal systematics: is a new age of enlightenment at hand? Nature Reviews. Microbiology. 11 (2): 129–33. doi:10.1038/nrmicro2963
- Hong Y, Chen W, Luo X, Pang C, Lester E, Wu T, 2017, Microwave-enhanced pyrolysis of macroalgae and microalgae for syngas production. Bioresour. Technology 237, 47–56.
- Hussein, H.S., Brasel, J. M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology, 167.2: 101-134.
- Jackson, R S, 2014, Botrytis, Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition) Pages 288-296, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00042-2>
- Jimenez, E., ve ark. 2011. Anti-phytopathogenic activities of macro-algae extracts. Marine drugs, 9.5: 739-756.
- Kaya B, Nüket N, 2021, Alternaria Genusu Üyelerinin Meyve ve Sebzeler Üzerine Etkileri, The Journal of Fungus, 12(2)223-239. Doi: 10.30708.mantar853146
- Kaya B ve Zorba, N.N., 2021.Mantar dergisi ,Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,Gıda Mühendisliği s.228
- Kellam, S. J., ve ark. 1988. Results of a large-scale screening programme to detect antifungal activity from marine and freshwater microalgae in laboratory culture. British Phycological Journal, 23.1: 45-47.
- Lawrence, D.P., Gannibal, P.B., Peever, T.L., Pryor, B.M. 2013. The sections of Alternaria: formalizing species-group concepts. Mycologia, 105: 530-546
- Lund H.C., Lund, J.W.G., 1995, Freshwater Algae, Biopress Limited, Bristol, England
- Mabrouk, S. S. ve ark. 1985. Inhibitory activities of some marine algae on aflatoxin accumulation. Applied Microbiology and Biotechnology, 22.2: 152-155.

- Nagai, H., Satake, M. & Yasumoto, T, 1990, Antimicrobial activities of polyether compounds of dinoflagellate origins. J Appl Phycol 2, 305–308. <https://doi.org/10.1007/BF02180919>
- Ometto F, Quiroga G, Pšenička P, Whitton R, Jefferson B, Villa R, 2014, Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion: Thermal treatment, thermal hydrolysis, ultrasound and enzymatic hydrolysis. Water Research, 65, 350–361.
- Pabuçcu K, Yücer Demiriz T, Spirogyra aequinoctialis’in Farklı Çözgenler Ile Hazırlanan Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Etkileri, KSU J. Agric Nat. 25 (5): 927-932, <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.979361>
- Pagnussatt, F. A., ve ark. 2013. Fusarium graminearum growth inhibition mechanism using phenolic compounds from Spirulina sp. Food Science and Technology (Campinas), 33: 75-80.
- Pirian K, Jeliani Z.Z, Sohrabipour J, Arman M, Faghihi M.M, Yousefzadi M, 2018, Nutritional and bioactivity evaluation of common seaweed species from the Persian Gulf. IJST Trans. A Sci. 42, 1795–1804
- Prescott, G.W., 1973, Algae of the Western Great Lake Area, Brown Comp. Pub. Dubugue Iowa.
- Prescott, G.W., 1975 Freshwater Algae, Brown Comp. Pub. Dubugue Iowa.
- Round, F.E, 1984, The Ecology Of Algae, Cambridge Univ. Press, Cambridge, England.
- Saidani, K., ve ark. 2012. Antifungal activity of methanolic extracts of four Algerian marine algae species. African Journal of Biotechnology, 11.39: 9496-9500.
- Stepanova E.M, Lugovaya E.A, 2021, Macro- and microelements in some species of marine life from the Sea of Okhotsk. Foods Raw Mater 9, 302–309.

- Torelli E, Ferraro G, Locci R, Gobbi E, 2006. Ochratoxin A-producing strains of *Penicillium* spp. isolated from grapes used for the production of “passito” wines. *International Journal of Food Microbiology* 106: 307 – 312)
- Sudhakar K, Mamat R, Samykano M, Azmi W. H, Ishak W. F.W, Yusaf T, 2018, An overview of marine macroalgae as bioresource. *Renew. Sustain. Energy Review*, 91, 165–179.
- Uysal S, Erkılıç A, 2022, Silifke çilek alanlarında fungal sorunların saptanması ve *Botrytis cinerea* izolatlarının bazı fungusitlere duyarlılığının belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(3) : 384- 395. DOI: 10.37908/mkutbd.1097305