

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
2016-YL-061

ÜLKEMİZDE DOĞAL YAYILIŞA SAHİP  
KARAYOSUNLARINDAN *SPHAGNUM*  
*CENTRALE* C.E.O. JENSEN VE  
*S.CAPILLIFOLIUM* (EHRH.)HEDW'UN  
(BRYOPHYTA) ANTI-MİKROBİYAL  
AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Fadime BAŞER

Tez Danışmanları:  
Doç. Dr. Mesut KIRMACI  
Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL

AYDIN-2016



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Fadime BAŞER tarafından hazırlanan “**Ülkemizde doğal yayılışa sahip karayosunlardan *Sphagnum centrale* ve *Sphagnum capillifolium*’un antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi**” başlıklı tez, 11.11.2016 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı , Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan : Doç. Dr. Mesut KIRMACI	ADÜ	.....
Üye : Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL	ADÜ	.....
Üye :Doç. Dr. Ali ÖZMEN	ADÜ	.....
Üye :Yrd. Doç.Dr. M. Evrim DEMİR	ADÜ	.....
Üye : Doç. Dr. Gürkan SEMİZ	PAÜ	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun .....sayılı kararıyla .....tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Aydın ÜNAY  
Enstitü Müdürü



**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**AYDIN**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

.../.../2016

Fadime BAŞER



## ÖZET

### ÜLKEMİZDE DOĞAL YAYILIŞA SAHİP KARAYOSUNLARINDAN *SPHAGNUM CENTRALE* C.E.O. JENSEN VE *S.CAPILLIFOLIUM* (EHRH.) HEDW. 'UN (*BRYOPHYTA*) ANTI-MİKROBİYAL AKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Fadime BAŞER

Yüksek Lisans Tezi Botanik Anabilim Dalı

Tez danışmanı: Doç. Dr. Mesut KIRMACI, Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL

2016, 39 sayfa

Bu çalışmada *Sphagnum* cinsi karayosunlarından *S. centrale* ve *S. capillifolium*'dan elde edilen özütlerin çeşitli Gram (-) ve Gram (+) bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Bakteriler, gıda güvenliğinde ve klinikte önemli gruplar arasından seçilmiş ve farklı çözücüler de hazırlanan özütlerin bu bakterilere olan inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Son yıllarda bryofitlerin tıbbi kullanımlarının araştırılması üzerine gerçekleştirilen çalışmalarda, belirgin artışların olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmaların bir kısmını bryofitlerin antimikrobiyal etkileri üzerine olan çalışmalar oluşturmaktadır. Farklı bakteri grupları ve farklı karayosunları ile gerçekleştirilen kombine çalışmalar umut verici olmakla birlikte, bu etkinin tespit edilmesinin ardından pratikte kullanılabilir seviyeye gelinmesi ancak daha ileri araştırmaların da gerçekleştirilmesi ile mümkün olacaktır. Çalışmamızda Gram (-) ve Gram (+) bakteri türlerine karşı *Sphagnum* cinsine ait 2 karayosunu *S. centrale* ve *S. capillifolium*'un antimikrobiyal açıdan etkili oldukları bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** *Sphagnum centrale*, *Sphagnumcapillifolium*, antimikrobiyal aktivite, Türkiye





## ABSTRACT

### DETERMINATION OF ANTI-MICROBIAL ACTIVITY OF *SPHAGNUM CENTRALE* C.E.O. JENSEN AND *S.* *CAPILLIFOLIUM*(EHRH.) HEDW. WHICH ARE NATURALLY GROW IN OUR COUNTRY

Fadime BAŞER

M. Sc. Thesis Department of Botanical Science

Spervisor: Assoc. Prof. Dr. Mesut KIRMACI, Assoc. Prof. Dr. Gamze

BAŞBÜLBÜL

2016, 39 pages

In this study mosses in the genus *Sphagnum* *S.centrale* and *S.capillifolium* obtained from extracts of a variety of Gram (-) and Gram (+) bacteria the antimicrobial effect was investigated. Bacteria important in food security and chosen from among extracts prepared in different solvents and in the clinic groups we investigated the effect of inhibition against bacteria. Although different studies performed with different bacterial groups and promising mosses are combined, then the estimate of this effect can not be used in the practice to attain that level, however, it is possible to further realization of the research. Preparatory work as a result, some Gram (-) and Gram (+) bacteria against species of *Sphagnum centrale* to *S. capillifolium* from the stand point of antimicrobial are effective.

**Key Words:** *Sphagnum centrale*, *Sphagnum capillifolium*, antimicrobial activity, Turkey



## ÖNSÖZ

Çalışılmış olan yüksek lisans tezimde, 2 farklı karayosunu türünün 15 patojen mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Ekstraksiyon için farklı çözücüler kullanılmış ve karayosunlarının bu mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerindeki farklılıkları karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmayla karayosunlarının kullanılan özütlerde antimikrobiyal aktivitelerinin de farklı olduğu ortaya çıkmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmamın yürütülmesi esnasında, örneklerin toplanmasında, teşhisinde ve tecrübelerine başvurduğum çalışmalarıma yön veren bilgi birikimi, önerileri ve tüm yüreğiyle her türlü desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam, Sayın Doç. Dr. Mesut KIRMACI'ya ve emeğini hep üzerimde hissettiğim ve her türlü laboratuvar koşullarında yanımda yardımcı ve destekçi olan sayın hocam Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca tez çalışmalarım sırasında yardımlarına başvurduğum değerli iki insan Emre AĞCAGİL ve Gözde ASLAN 'a, teşekkürlerimi bir borç bilirim. Arazi çalışmalarında ve bitkilerin temin edilmesinde yanımda olan arkadaşlarım Fulya FİLİZ ve Uğur ÇATAK'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca olduğu gibi tez çalışmam boyunca da maddi ve manevi yanımda olan, her zaman destekçi olan ve bugünlere gelmemi sağlayan annem "Ayşe BAŞER'e ve babam İbrahim BAŞER'e, varlığıyla hayatıma renk katan ve her zaman yanımda olduğunu bildiğim abim Akın BAŞER'e, bütün kalbiyle bana inanan, destek olup ve zor günlerimde her zaman yanımda olan Oğuzhan CANOĞLU' na sonsuz teşekkür ederim.

Bu çalışmaya, FEF-15015 numaralı proje ile finansal destek sağlayan Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na ve olanaklarını sonuna kadar kullanmama izin veren Biyoloji Bölüm Başkanlığı'na teşekkür ederim..

Fadime BAŞER



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xvii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	7
2.1. Araştırma Konusuyla İlgili Çalışmalar.....	7
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	14
3.1. Materyal.....	14
3.1.1. Karayosunu Örnekleri.....	14
3.1.2. Örneklerin Teşhisi.....	14
3.1.3. Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücüler .....	15
3.1.3.1. Petrol Eteri.....	15
3.1.3.2. Etil Asetat.....	15
3.1.3.3. Diklorometan.....	15
3.1.2.4. Methanol.....	15
3.1.4. Mikroorganizmalar.....	16
3.1.4.1. <i>Escherichia coli</i> .....	16
3.1.4.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
3.1.4.3. <i>Bacillus cereus</i> .....	17
3.1.4.4. <i>Serratia marcescens</i> .....	17

3.1.4.5. <i>Pectobacterium carotovorum</i> .....	17
3.1.4.6. <i>Listeriamonocytogenes</i> .....	17
3.1.4.7. <i>Enterococcus faecalis</i> .....	17
3.1.4.8. <i>Micrococcus luteus</i> .....	18
3.1.4.9. <i>Listeria innocua</i> .....	18
3.1.4.10. <i>Brochothrix thermosphacta</i> .....	18
3.1.4.11. <i>Cellulomonas fimi</i> .....	18
3.1.4.12. VRE (Vancomycin dirençli Enterokok).....	18
3.1.4.13. <i>Geobacillus stearothermophilus</i> .....	19
3.1.4.14. <i>Bacillus thurigiensis</i> .....	19
3.1.4.15. <i>Bacillus subtilis</i> .....	19
3.1.5. Besiyerleri.....	19
3.2. Metod .....	19
3.2.1. Ekstraksiyon Öncesi Hazırlık .....	19
3.2.2. Karayosunlarından Özütlerin Elde Edilmesi .....	19
3.2.3. Karayosunlarının Ekstraksiyonu .....	20
3.2.4. Çözücülerin Uzaklaştırılması.....	20
3.2.4.1. Petrol eteri özütü .....	20
3.2.4.2. Etil asetat özütü .....	21
3.2.4.3. Diklormetan özütü .....	21
3.2.4.4. Metanol özütü .....	22
3.2.5. Elde Edilen Özütlerin Ayrılması.....	23
3.2.6 Antimikrobiyal Aktivite Taranması.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. <i>Sphagnum capillifolium</i> Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi. ....	25
4.1.1. <i>S.capillifolium</i> ' un Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	25

4.2. <i>Sphagnum centrale</i> Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivite .....	26
4.2.1. <i>Sphagnum centrale</i> 'de Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları.....	26
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	28
KAYNAKLAR .....	31
ÖZGEÇMİŞ.....	39





**SİMGE VE KISALTMALAR**

<i>DDM</i>	: Disk Difüzyon Metodu
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
N.A	: Nutrient agar
B.H.I	: Brain Hearth Infusion Broth
C.A	: Calcium Caseinate Agar
T.S.Y.E	: Tryptone Soy Yeast Extract Agar
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
sdH <sub>2</sub> O	: Steril distile su
GC-MS	: Gaz kromatografisi kütle spektrometresi
GC-FID	: Gaz kromatografisi alev iyonlaşma dedektörü
VRE	: Vankomicin dirençli Enterokok
DMSO	: Dimetil sülfooksit
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
pH	: Power of hyderogen
°C	: Santigrat derece
µL	: Mikrolitre
mm	: Milimetre



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>Sphagnum centrale</i> ve <i>S. capillifolium</i> 'un Genel Görünümü. ....	15
Şekil 3.2. Kullanılan Evaporatör Cihazı.....	20
Şekil 3.3. Petrol Eteri Özütleri.....	21
Şekil 3.4. Diklorometan Özütleri.....	22
Şekil 3.5. Metanol Özütleri.....	23



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Karayosunu Örnekleri.....	14
Çizelge 3.2. Deneyde Kullanılan Bakteriler, Besi Yerleri Ve Üreme Sıcaklıkları... .....	16
Çizelge 3.3. <i>Sphagnum capillifolium</i> ve <i>S. centrale</i> 'nin Yaş ve Kuru Ağırlıklarına Göre Çıkan Özüt Miktarları.....	23
Çizelge 4.1. <i>S. capillifolium</i> 'dan Elde Edilen Özütlerin Test Sonuçları.....	26
Çizelge 4.2. <i>S. centrale</i> 'den Elde Edilen Özütlerin Test Sonuçları.....	27



## 1. GİRİŞ

Türkiye, yakın ülke florasıyla karşılaştırıldığında dikkate değer ve zengin bir bitki çeşitliliğine sahiptir. Bu zenginlikte; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, değişik iklim ve ortam koşullarına sahip olması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya arasında köprü olması ve jeolojik ve jeomorfolojik farklılıklar temel rol oynar. Tüm bu kriterler pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşma merkezinin Anadolu olmasına neden olmuştur (Avcı, 2005). Son çalışmalara göre toplam 11747 damarlı bitki taksonu (alttür, varyete, melez dâhil) ülkemizde yayılış göstermektedir. Bunlar içerisinde 3689 (% 31,82) takson ise endemiktir (Güner ve vd., 2012)

Yukarıda çiçekli bitki taksonların zenginliğinin nedenleri için verilen tüm şartlar çalışma konumuzu oluşturan biryofit taksonları için de geçerlidir. Biryofit terimi, birbiriyle yakın ilişkili üç grup; ciğerotları, karayosunları ve boynuzlu ciğerotları için kullanılır. (Gradstein vd.,2001; Crum, 2001; Glime, 2007). En ilkel bitki gruplarının yaşayan temsilcileri olan biryofitlerin, çöllerden tundralara oldukça geniş bir yaşam aralığı ve substrat tercihleri vardır. Ağaç, kaya, toprak gibi bilindik substratların haricinde; kemik, metal, yün gibi çiçekli bitkilerin büyüemeyecekleri substratlar üzerinde de bulunabilirler. Bunda en temel etmen, iyi gelişmiş iletim dokularından yoksun olmalarıdır. Bu nedenle gerçek kök, yaprak ve gövde gibi organ oluşumlarından yoksundurlar. Besin gereksinimlerini tüm yüzeyleriyle çevreden temin ederler. Asıl görevleri tutunma olan rizoidler köklerin öncüleridir. Bu yapılar gerçek köklerin aksine, çoğunlukla tek bazen de birkaç hücreden meydana gelir ve buldukları ortamdan kapilarite ile çok az miktarda su ve madensel tuzların alınımında iş görürler.

Ülkemizde yaklaşık 800 karayosunu, 180 ciğerotu ve 4 boynuzlu ot bulunmaktadır (Kırmacı görüşmesinden, 2016). Bu rakam Avrupa ülkeleri ile karşılaştırıldığında yüksek olmakla birlikte, ülkemiz açısından yeterli seviyelerde değildir. Bunun en önemli nedeni özellikle Doğu, Güneydoğu ve İç Anadolu bölgelerindeki biryofloristik çalışmaların eksikliğidir. Ülkemiz biryofitlerinin durumunu ortaya koymak adına gerçekleştirilen çalışmalar özellikle son yıllarda artış göstermiş, biryofitlerinin fitososyolojisi, antibakteriyal, antifungal, antikanser vb. özellikleri üzerine yapılan çalışmalar taksonomik çalışmaların gerisinde kalarak yeterli sayıya ulaşamamıştır.

Dünya üzerinde yaklaşık 20.000 çiçekli bitki taksonu tıbbi amaçlar için kullanılırken, ülkemizde bu rakam yaklaşık 500 civarındadır (Altundağ ve Aslım, 2005). Bitkilerin kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum vb. yapılarından mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilecek çok sayıda madde izole edilmiş, bu maddeler patojen mikroorganizmalar üzerine denenmiş ve aktiviteleri rapor edilmiştir (Ertürk ve Demirbağ, 2003). Özellikle 1950’lerde antibiyotiklerin ortaya çıkmasıyla, bitki tedavi amaçlı kullanımı azalmıştır. Bilim insanlarının antibiyotiğin etki etme süresinin geçici olduğunu keşfetmesi ve antibiyotiklere karşı bakterilerde ilaç dirençliliği artması, bitkinin ilaç olarak kullanımını tekrar yaygın hale getirmiştir (Abaskal ve Yarnell, 2002; Şahin, 2007).

Günümüzde hastalıklara karşı sentetik yapıli ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin saptanması doğal ürünlerin kullanma zorunluluğunu arttırmıştır. Bu amaçla birçok bitki mikrobiyolojik farmakolojik yönlerden hatta biyolojik savaşın gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizması bakımından da çok yönlü araştırılmaktadır (Dipnot, 2015).

Mikroorganizmaların üremesini engelleyen ve öldüren doğal veya sentetik kimyasallar, antimikrobiyal maddeler olarak adlandırılırlar (Toprakkaya, 2003). Bu maddelerin etkisi, üremeyi durdurucu veya öldürücü olabilir. Organizmaları öldüren maddeler sidal maddeler olarak isimlendirilir ve aldığı ön ek öldürülen organizmanın tipini işaret etmektedir. Dolayısıyla bakteriler, funguslar ve virüsleri öldüren maddeler sırasıyla bakteriyosidal, fungusidal ve virusidal maddeler olarak isimlendirilir. Organizmayı öldürmeyen, buna karşılık sadece üremesini engelleyen maddeler statik maddeler olarak isimlendirilir ve bunlar bakteriyostatik, fungistatik ve viristatik maddeler olarak isimlendirilirler. Bakterilerin üremesini engelleyen veya öldüren bu maddeler arasında çeşitli kimyasal moleküller de bulunmaktadır. Bu moleküller nitrit, sülfıt, propiyonik asit, sorbik asit, benzoik asit, hidroksibenzoik asit esterleri ve difenil bazı olarak kabul edilir (Madigan, Martinko, 2010).

İnsanlar yıllardır birtakım kimyasal maddeleri gıdaları korumak amacıyla kullanmaktadır. Kullanılan bu kimyasal maddelerin başında sofrata tuzu, nitrit ve sülfat tuzları gelmektedir. Fakat son zamanlarda bu kimyasal maddelere ilaveten yeni tip koruyucu antimikrobiyal aktiviteye sahip kimyasal maddeler geliştirilmiştir. Antimikrobiyal maddeler, gıdalarda istenmeyen, ancak herhangi bir nedenle bulunabilen bakteri, küf ve mayaları, patojen olan veya olmayan her türlü mikroorganizmayı ortamdaki yok etmek, çoğalma ve faaliyetlerini önlemek



için gıdalara katılmaktadır. Mikroorganizmaların gıda içerisinde büyümeleri ve çoğalmaları, gıdalarının bozulmasına neden olan başlıca etkindir. Bu mikroorganizmalar insanlarda gıda zehirlenmesi olarak tanımlanan hastalıklardan neden olabilecek zehirli kimyasal maddeler üretebilmektedirler. Bu nedenle gıdalarda kullanılan antimikrobiyal maddeler, mikroorganizmaların ölümüne veya üremelerinin engellenmesine neden olarak gıdaların uzun raf ömrüne sahip olmaları sağlamaktadır (Alanyalı vd., 2009; Altuner, 2008)

Antimikrobiyal aktivite çalışmaları bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri ile 1900'li yıllardan itibaren araştırılmaya başlamıştır. Konu üzerine çalışan araştırmacılar ilaçlara alternatif olarak antimikrobiyal özellik gösteren bitkilerin kullanılabilmesini önermişlerdir. Ayrıca ilaç dirençliliğini indirgeyebilmek için antibiyotiklerle bitkilerin birlikte kullanılması gerektiğine de dikkat çekmişlerdir.

Bilinen tüm antibiyotiklere direnç geliştirmekte olan bakterilerde, her geçen gün özellikle yanlış ilaç kullanımının paralelinde ilaç dirençliliği artmakta ve yayılmaktadır. Günümüzde gelişmiş ülkelerde, kimyasal ilaçların bilinçsiz ve fazladan kullanımlarına tepki olarak, bu ilaçlara alternatif bazı geleneksel bitkilerin tamamlayıcı veya alternatif tıp olarak kullanımı artmakta ve tekrardan doğaya dönüş akımı yayılmaktadır. (Keleş, 2001; Abaskal ve Yarnell, 2002; Onbaşılı vd., 2011; Uğuz, 2011; Toroğlu ve Çenet, 2006).

Bitkilerin çoğunluğu yapısında buldukları fitokimyasallar sayesinde antimikrobiyal aktivite göstermektedirler (Altuner, 2008). Karayosunlarında antimikrobiyal aktiviteye neden olan metabolitler primer metabolitlerdir. Hemen hemen bütün yaşayan organizmalar için zorunlu sayılır ve primer metabolizma reaksiyonlarından türer. Bunlar arasında, karbonhidratlar, nükleotidler, proteinler, trikarboksilik asit devri ara ürünleri, lipidler, fotosentetik proseslerin yaygın pigmentleri ve lignin sayılmaktadır. Biryofitlerin primer metabolizmaları damarlı bitkilerinkine çok benzer. Hücre duvarlarında selüloz gibi esansiyel bileşikler, klorofil a, klorofil b, ana karotenoidler, nisasta, nükleik asitler, şekerler ve bazı lipidleri içerir. Bitkiler sekonder metabolizmaları ile yaşamsal değer taşımayan ve bitkinin büyüme, gelişiminde doğrudan görev almayan organik maddeler üretirler. Sekonder metabolitler kimyasal olarak 3 farklı grupta toplanırlar. Bunlar terpenler, fenolikler ve alkaloidlerdir (Anonymous, 2009). Biryofitlerle yapılan çalışmalarda, lignin benzeri aromatik bileşiklere, karbonhidratlara, aminoasitlere rastlanmaktadır.

Konumuzu oluşturan biryofitler, çiçekli bitkiler ile karşılaştırıldığında bu anlamda daha sınırlı kullanım alanlarına sahiptirler. Buna rağmen, ilk toplumlardan itibaren insan yaşamına katıldıkları bulunmuştur. İlk avcı toplumlarda bazı karayosunlarının kesici aletlerin etrafına sarıldıkları bilinmektedir (Dickson, 1973). Biryofitlerin geleneksel Çin tıbbında kullanımları MÖ 4000'lere tarihlenmektedir (Wu, 1982). Yerli halklar tarafından böcek ısırılmalarından doğan tahrişleri azaltmak için de kullanıldıkları bilinmektedir.(Saxane ve Harinder, 2004). Birçok biryofit örneğini çerdikleri maddelerden dolayı herbaryumlarda herhangi bir zehirlenme veya koruma işlemine tabi tutulmadan uzun yıllar saklanabildiği bilinmektedir. İlaçlara alternatif olarak, antimikrobiyal özellik gösteren bitkilerin kullanımı gün geçtikçe artış göstermektedir. Bununla beraber bazı araştırmacılar ilaç dirençliliğini indirgeyebilmek için antibiyotiklerle bitkilerin birlikte kullanılması gerektiğine de dikkat çekmişlerdir. Biryofitlerin antimikrobiyal madde kaynağı olarak kullanımları yaygın olmamakla birlikte, yüzyıllar boyunca yaraların iyileştirilmesinde kullanılmışlardır (Kang vd.,2007; Sawant, 2010).

Bugün birçok biryofit özütlerinin *in vitro* çalışmalarla çeşitli düzeylerde antibakteriyel ve antikanser aktivitelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Örneğin; *Porella* spp. ve *Conocephalum conicum*'dan polygodial, *Lunularia cruciata*'dan lunularin gibi maddeler elde edilmiştir. Bazı ciğerotlarının ise sadece etkili bir fungisid ve bakterisid olmadığı, aynı zamanda zararlı böceklerle karşı zayıf bir biosid (mide zehiri) olarak etki yaptığı ifade edilmektedir (Saxena ve Harinder, 2004). Antartika gibi dünyanın özel bölgelerindeki karayosunları kimyasal olarak çeşitli biyolojik aktif metabolitlerin kaynağı olarak önerilmiştir (Zheng vd., 1994). Sanionin A ve B, Antartik Livingston Adası'ndan toplanan bir karayosunu olan *Sanionia georgico-uncinata*'dan izole edilmiştir. Bu bileşikler, çoklu direnç gösteren stafilkoklar, gram pozitif patojenler ve vankomisine dirençli enterekoklara karşı önemli aktivite göstermiştir. İltihap sökücü aktivite ve düşük sitotoksisite birlikte gözlenmiştir (Ivanova vd., 2007). Biryofitlerin mantarlara ve prokaryotik hücrelere karşı da antibiyotik aktivite gösterdiği kanıtlanmıştır (Ando vd., 1984). İyi bilinen *Conocephalum conicum*, *Mnium undulatum* (Hedw.) ve *Leptodictyum riparium*'un özütleri patojenik bakteri türlerine karşı yüksek antibakteriyel etki göstermiştir (Castaldo vd., 1988). Son yıllarda izolasyon, tanımlama ve kimyasal yapı tayini gibi aktiviteler ile karakterize edilen çeşitli moleküller elde edilmiştir (Asakawa, 1990). *Atrichum*, *Dicranum*, *Mnium*, *Polytrichum* ve *Sphagnum* cinslerine ait türlerdeki antibiyotik olarak aktif

maddeler, fenolik bileşikler olarak kabul edilmiştir (McCleary vd., 1960). Marchantin A (Asakawa, 1988), siklopentanol yağ asitleri ve onların öncüleri (Ichikawa vd., 1984) gibi moleküllerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. *Polytrichum juniperinum*'un alkolik veya asidik özütleri CAF<sub>1</sub> farelerinin kas hücrelerine enjekte edilerek karsinomaya karşı antitümör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Belkin vd., 1952). Diğer durumlarda biryofit ekstraktları tümör teşvik edici aktivite göstermiştir (Asakawa, 1990). Ayrıca bazı biryofitlerin ürettiği allelopatik bileşiklerden dolayı yüksek bitkilerin büyümesini engellediği bilinmektedir (Basile vd., 1998). Yine *Atrichum*, *Dicranum*, *Mnium*, *Polytrichum* ve *Sphagnum* cinslerine ait türler ile yapılan bir çalışmada 7 saf flavanoid izole edilmiş ve belirlenmiştir. Bu flavonoidler apigenin-7-O-triglikozit, lucenin-2, luteolin-7-O-neohesperidosit, saponarin ve vitexin, apigenin flavonları ve biflavonoid bartramia flavonudur. Bu flavonoidlerin bazıları *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı belirgin antibakteriyel etki göstermiştir. Çalışılan bu taksonların antibakteriyel spektrumları, çoğunlukla Gram negatif bakteri suşlarına karşı etkin, ciddi fırsatçı enfeksiyonlardan sorumlu ve yaygın antibakteriyel tedaviye dayanıklı olmaları nedeniyle, içerdikleri flavonoidlerin antibakteriyel stratejide önemli bir araç olabileceğini akla getirmektedir (Basile vd., 1999). Son yıllarda maddelerin antimikrobiyal özelliklerini belirlemek için önemli ölçüde yoğun araştırmalar yapılmıştır. Bitkilerin, bakteri ve mantarlar için doğal olarak toksik olan belirli kimyasallar ürettiği bilinmektedir.(Harborne, 1988). İzoflavonoidleri ve flavonoidleri içine alan savunma mekanizması farklı kimyasal sınıfların geniş bir bölümüne aittir (Smith, 1996). Karayosunlarında bulunan biflavonoid maddeler aynı zamanda mikroorganizmalara karşı kimyasal bariyerler olarak kayıtlara geçmiştir. (Geiger vd., 1988; Lopez-Saez, 1996). İzoflavonoidlerin ve flavonoidlerin, luteolin ve apigenin glikositlerinin antibakteriyel aktiviteleri çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir (Gnanamanichan vd., 1981; Miski vd., 1983).

Ülkemizde, biryofitlerin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi üzerine sınırlı sayıda çalışma mevcut olup bunlar; Dulger vd. (1998; 2005), İlhan vd.(2006),Demirhan (2007),Altuner vd. (2010),Üçüncü vd.(2010), Onbaşıllı (2011), Savaroğlu vd. (2011),Elibol vd. (2011),Savaroğlu vd. (2011), Berber vd. (2013), Tekerlek P.(2013), Tosun vd. (2015) olarak sıralanabilir. 1980'lerde Uluslararası Kanser Enstitüsü sitotoksikite testi kullanarak antitümör ajan olarak tek bir karayosununun tarandığını rapor etmiştir (Spjut vd., 1986). Günümüzde bu sayı yetersiz olmakla birlikte belirli sayıya ulaşmıştır. *Polytrichum* türlerinden

benzonaf toksantonone (Zheng vd., 1989, 1993, 1994), *P. pallidisetum* (Zheng vd., 1994) ve *Sanionia georgico-uncinata*' dan (Ivanova vd., 2007) Cinnamol bibenzil, *Claopodium crispifolium* (Suwanborirux vd., 1990), *Anomodon attenuatus* (Suwanborirux vd., 1990), *Isothecium subdiversiforme* (Skai vd., 1988) ve *Thamnobryum sandei* (Skai vd., 1988) den maytansine analogları örnek olarak verilebilir. Bunların dışında karayosunlarından çok az sitotoksik molekül izole edildiği rapor edilmiştir (Ootsu vd. ,1980; Cassady vd. ,2004).

Biryofitler içerisinde çalışma konumuzu oluşturan *Sphagnum* cinsi, en fazla kullanım alanına sahip taksonları içerisinde barındırır. Dört bin yıl önce Kuzey Denizi kıyılarında oturan insanların kurutulmuş turba tezeklerini pişirme ve ısıtma amaçlı kullandıkları ve bu nedenle turbalıklara "toprak altı ağaçları" dedikleri bilinmektedir. Bugün ısıtma ve çiçekçilik sektörü başta olmak üzere çok sayıda kullanıma rastlamak mümkündür. Biryofitlerin, birçok insan tarafından tam anlamıyla bilinmemekle birlikte, son yıllarda artan bir şekilde, farmakolojik ürünlerde, çiçekçilik sektöründe, biyoindikatör olarak, ev süslemelerinde ve endüstriyel alanda çok çeşitli kullanım alanları mevcuttur. Gerçek anlamda koruyucu bir epidermis ve kutikuladan yoksundurlar. Özellikle karayosunları, tek hücre kalınlığında olmalarından dolayı, atmosferdeki besin ve kirleticileri direkt olarak içlerine alarak hücrelerinde biriktirirler. Bu özelliklerinden dolayı hava ve su kirliliğine karşı indikatör olarak kullanılabilirler. Biryofitler ekolojik özelliklerinden dolayı ekosistemin kritik öneme sahip canlılarıdır. Orman tabanını ve ağaç gövdelerini kaplayarak, alandaki nemin ve ısının korunmasına yardım ederler. Böylece kendi içlerinde korunaklı bir alan oluştururlar. Bu özelliklerinden dolayı birçok organizmaya besin ve barınak sağlarlar. Biryofitlerin en önemli işlevlerinden bir tanesi de erozyonu önlemede oynadıkları roldür. Karayosunları kendi ağırlıklarının yaklaşık 10 katı kadar suyu emebilir (bu oran *Sphagnum* türlerinde 30 kata kadar çıkabilir) böylece suya doymun bir katman oluşturarak suyun üzerlerinden akıp gitmesini sağlarlar. (<http://www.gaziantepbiyocesitlilik.com/index.php/flora/karayosunlari>)

Bu çalışma ile ülkemizde doğal yayılışa sahip *Sphagnum* cinsine ait 2 takson: *S. centrale* ve *S. capillifolium*'un antimikrobiyal aktivitesi ortaya konulmuştur. Gerçekleştirilen çalışma bu konudaki bir açığı kapatma ve bundan sonra konu üzerine çalışacak araştırmacılara katkı sağlama potansiyeline sahiptir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1. Araştırma Konusuyla İlgili Çalışmalar

Literatürde biryofitlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine gerçekleştirilen bazı çalışmalara rastlanmaktadır. Dünya genelinde ve ülkemizde gerçekleştirilen bu çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Basile vd. 1998 yılında yapmış oldukları çalışmayla, bir karayosunu türü olan *Tortella squarrosa*'nın aseton özütlerinin 11 bakteri suşu (*Staphylococcus aureus* ATCC 13709, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 10875, *Enterococcus faecalis* ATCC 14428, *Bacillus subtilis* ATCC 10774, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Proteus vulgaris* ATCC 12454, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Enterobacter cloacae* 7 ATCC 10699 ve *Citrobacter diversus* ATCC 25408) üzerine anitimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae*'nin daha duyarlı olduğunu bulunmuştur.

Dulger vd. (1999), *Artemisia absinthium* L.'dan hazırlanan etil asetat, aseton, kloroform ve etanol özütlerinin antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemiyle test mikroorganizmalarına karşı denenmiştir. Test mikroorganizmaları olarak *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Corynebacterium xerosis* CCM 2824, *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13022, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Serratia marcescens* NRRL 3284, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus brevis* ATCC 9999, *Bacillus sphaericus*, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus thurigiensis*, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Sarcina lutea*, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B-4877, *Alcaligenes faecalis* CCM 3763, *Alcaligenes eutrophus*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella typhi* ATCC 19430, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Micrococcus roseus*, *Micrococcus flavus* ATCC 14452, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Bordatella bronchiseptica* ATCC 4617, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas extorquens*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Pseudomonas putida*, *Xanthomonas campestris*, *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415, *Candida albicans* ATCC 10231,

*Candida utilis* LA 991, *Hansenula sp.*, *Rhodotorula rubra*, *Debaryomyces sp.*, *Saccharomyces crevisiae* ATCC9763, *Schizosaccharomyces sp.*, *Torulopsis sp.* ve *Tortula sp.* kullanılmıştır. Bulgulara göre *Artemisia absinthium* L. özütlerinin bazı Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antimikrobiyal bir aktivite göstermesine rağmen kullanılan maya kültürlerine karşı antifungal bir aktiviteye sahip olmadığı saptanmıştır.

Yine Dulger vd. (2005) yapmış oldukları diğer bir çalışmada, *Grimmia pulvina*, *Tortula subulata*, *Weisia controversa*, *Leucodon sciuroides*, *Hypnum cupressiforme*, *Homalothecium sericium*, *Neckera complanata* ve *Mnium undulatum* türlerinin 30 mg/ml konsantrasyonda metanol özütlerini elde etmişlerdir. Bu özütleri *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium smegmatis* DSM 43465, *Candida albicans* ATCC 10231, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 suşları üzerinde disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak karayosunu Gram (-) ve Gram (+) bakterilere karşı ılımlı etki gösterdiğini ve en duyarlı mikroorganizmaların *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aureuginosa* olduğunu belirlemişlerdir.

Sabovljevic vd. (2005), *Bryum argenteum* türünün etanol özütleri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* bakterileri ve *Aspergillus niger*, *Penicillium ochrochloron*, *Candida albicans* ile *Trichophyton mentagrophytes* mantar türlerine karşı mikrodilüsyon yöntemine göre değerlendirmişlerdir. Etanol özütünün tüm bakteri ve mantarlara karşı etkin olduğunu belirlemişlerdir.

İlhan vd. (2006) Sündiken Dağları'ndan (Eskişehir/Türkiye) toplanan *Palustriella commutata* antimikrobiyal aktivitesini ortaya koymuşlardır. Aseton ve metanol çözücüleriyle reflüks altında hazırlanan özütlerin antimikrobiyal aktivitesi 11 bakteri, 1 maya ve 8 küfe karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Antimikrobiyal test sonuçlarından asetonun test bakterilerine karşı potansiyel bir aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Denenen Gram (+) bakterilerden bazıları (*B. mycoides*, *B. cereus*, *B. subtilis* ve *Micrococcus luteus*) aseton ekstratına duyarlı iken, Gram (-) bakterilerinin (*Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve

*Enterobacter aerogenes*) hepsi duyarlıdır. Her iki özüt maya ve küf suşlarına karşı inaktiftir. Elde edilen bulgular *P. commutata* 'nın Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkili olan yeni bir antimikrobiyal bileşiğe sahip olma olasılığını ileri sürmektedir.

Russell ve Ellis (2007)'in yaptıkları çalışmada etanol ve metanolde hazırlanan *Sphagnum palustre*, *Bartramia pomiformis*, *Leucolepsis acanthoneuron*, *Hylocomium splendens*, *Atricum selwynii*, *Polytrichastrum alpinum* karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini *E. coli*, *Bacillus subtilis* ve *Klebsiella pneumoniae*' ye karşı değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda etanol özütleri kullanıldığında karayosunlarının % 65'i antibiyotik aktivitesi gösterirken metanol özütlerinde karayosunlarının % 43'ü aktivite gösterdiği görülmüştür. Ayrıca çalışmada kullanılan karayosunlarının Gram (+) bakterilere karşı fazla antimikrobiyal aktivite gösterirken Gram (-) bakterilere karşı fazla etki göstermediği de ortaya çıkmıştır. Bu sonucun nedeninin fizyolojik olarak Gram (+) bakterilerin üzerinde yalnız peptidoglikan tabakası bulunurken, Gram (-) bakterilerin üzerinde bir dış tabaka daha olduğunu neden olarak gösterilmiştir.

Kang vd. (2007), *Bartramia pomiformis*, *Ceratodon purpureus*, *Dicranum scoparium*, *Eurhynchium pulchellum*, *Hylocomium splendens*, *Leucolepsis acanthoneuron*, *Neckera douglasii*, *Pleurozium schreberi*, *Rhacomitrium lanuginosum*, *Rhytidiadelphus triquetrum* türlerinin % 80 lik metanol özütlerini elde ettikten sonra disk difüzyon yöntemi ile metisillin dirençli *Staphylococcus aureus*, ATCC 259238, *Bacillus subtilis* C626, *Enterococcus faecalis* C625, *Escherichia coli* UB1005, *Pseudomonas aeruginosa* PA01 ve *Salmonella typhimurium* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Sonuçta, dokuz karayosunu türünün özellikle Gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini fakat Gram (-) bakterilere karşı etki göstermediğini gözlemlemişlerdir. *Leucolepsis acanthoneuron* ve *Hylocomium splendens*'in özellikle stafilokoklara karşı, diğer yosun türlerinden daha güçlü aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir.

Veljic vd. (2009), yaptıkları çalışmada *Fontinalis antipyretica*, *Hypnum cupressiforme* ve *Ctenidium molluscum* türlerini metanol ile ekstrakte edip, antibakteriyel ve antifungal aktivitelerini belirtmişlerdir. *Fontinalis antipyretica* ile elde edilen metanol özütlerinin mikobakteri ve bakterilere karşı güçlü etki

gösterdiği gözlemlenmiştir. Metanol özütünün antibakteriyel etkisi Gram (-) bakterilerde Gram (+) bakterilerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Sawant ve Karadge (2010), *Plagiochasma intermedium*, *Targionia hypophylla*, türlerinin metanol ve diklorometan özütlerini gram (-) *Staphylococcus aureus* (NCIM5021), *Bacillus subtilis* (NCIM 2010) ve Gram (+) *Escherichia coli* (NCIM 2089) suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. *Plagiochasma intermedium* türünün test edilen bakterilere karşı hiçbir etki göstermediğini ve *Targionia hypophylla* türünün iyi sonuçlar verdiğini belirtmişlerdir.

Altuner vd. (2010), bir karayosunu türü olan *Tortella tortulosa*'nın farklı [kloroform, benzen, dietil eter, etil alkol, metil alkol, etil asetat, dH<sub>2</sub>O ve 0.5 M Tris-HCl tamponu (pH: 8.0)] çözücülerle özütlerini elde ederek, bunların *in vitro* antimikrobiyal etkileri disk difüzyon testi kullanarak, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Yersinia enterocolitica* O3, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Candida albicans* ATCC 95071, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Shigella flexneri* ve *Trichophyton rubrum* suşlarına karşı denemişlerdir. Çalışmanın sonucunda etanolün *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Candida albicans* ATCC 95071, *Shigella flexneri* ve *Trichophyton rubrum* suşlarına karşı etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Onbaşılı (2011) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *Mnium marginatum* özütlerinin antimikrobiyal etkilerinin gözlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 4 farklı çözücü (aseton, kloroform, metanol ve steril distile su) kullanılarak özütler elde edilmiş ve antimikrobiyal etkileri için, bazı Gram (+) bakteriler (*Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213), Gram (-) bakteriler (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076) ve maya kültürleri (*Candida glabrata* RSKK 04019, *Candida albicans* ATCC 90028), disk difüzyon metodu kullanılarak denenmiştir. Disk difüzyon metodu ile elde edilen sonuçlarda; *M. marginatum*'un kloroform ekstraktı, diğer ekstraktlarla karşılaştırıldığında *Escherichia. coli* ATCC 25922 (15 mm) üzerine yüksek bir antimikrobiyal etki gösterirken; en düşük inhibisyon etkiyi ise *C. glabrata* RSKK 04019 (6 mm) üzerine kloroform ve sdH<sub>2</sub>O ekstraktları göstermiştir.



Bir diğerk çalışmada Savaroğlu vd. (2011) sucul karayosunlarından *Fontinalis antipyretica*'nın antimikrobiyal ve antikanser özelliklerini incelemişlerdir. İki farklı ekstraksiyon yöntemiyle 8 özüt (metanol, kloroform, aseton, etil asetat, A, B, C ve D) elde edilmiş ve özütlerin antimikrobiyal aktivitesi 8 bakteri ve 7 küfe karşı kuyucuk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kloroform, aseton, etil asetat, A ve C özütleri hemen hemen tüm test edilen türlere karşı etki göstermiştir. Özüt C'nin aktif bileşenleri preperatif ince tabaka kromatografisi (biyootografi) ile taranmıştır. Aktif bileşen (spot 4) test edilen bakteriler için 93,8-375,0 µg/mL aralığında; küfleriçin ise 187,5-375,0 µg/ml aralığında minimum inhibisyon konsantrasyonu göstermiştir. Özüt C'nin bu bileşeni *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Yersinia enterocolitica* olmak üzere 5 bakteri ve *Aspergillus flavus*, *Fusarium solani*, *F. graminearum* olmak üzere 3 fungal straine karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ek olarak özüt C' nin aktif bileşeninin 0,16, 1,6, 16, 80 ve 160 µg/ml konsantrasyonlarının *in vitro* toksisitesi test edilmiştir. Sadece 80 ve 160 µg/ml 24 ve 48 saatte doza ve zamana bağlı olarak sıçan glioma (C6) hücre canlılığında azalmaya neden olmuştur. Bu çalışma *Fontinalis antipyretica*'nın yeni bir antimikrobiyal ve antikanser ajan olabilme olasılığını ortaya koymaktadır.

Elibol vd. 2011 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada 6 farklı karayosununun antifungal ve antibakteriyal etkisini *in vitro* ortamda 8 farklı mikroorganizma üzerinde denemişlerdir. Özütleri etil alkol, metil alkol, aseton ve kloroform çözücü kullanarak elde etmişlerdir. Sonuçta en yüksek antibiyotik etki metil alkol özütlerinde görülürken, kloroform da ise en düşük antibiyotik seviye olduğu gözlemlenmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan karayosunlarından *Grimmia anadon* antimikrobiyal açıdan en yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir, bu da çalışmayı olumsuz etkilemiştir. Diğerk taraftan, çalışmada seçilen mantarlara karşı antifungal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Tüm sonuçlar standart antibiyotik disklerden olan fenobarbital, ampisilin, eritromisin ve vancomisin ile karşılaştırılmıştır ve *Tortella tortuosa* sadece *Candida albicans* ATCC 16231 suşu'nda aseton özütünde etkisini oluşturduğu ortaya çıkmıştır.

Savaroğlu vd. (2011) antibakteriyal ve antifungal aktiviteye sahip 7 farklı özütten *Funaria hygrometrica*, *Hypnum cupressiforme*, *H. İmponens*, *Polytrichum juniperinum* ve *Tortella tortuosa* olmak üzere 5 tane karayosunu türlerinden agar difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile altı bakteriyel ve üç fungal hastalıklara karşı test edilmiştir. Özütlerin bazı Gram (+) ve Gram (-), bakterilerinin üzerinde

etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *T. tortuosa* özütü *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı en yüksek antibakteriyel aktiviteye (5,9 ug/ml MİK) sahip olduğu görülmüştür. 5 karayosunu arasında, *Polytrichum juniperinum* ve *Tortella tortuosa* bakteri ve mantar türlerine karşı test edilmiş ve en iyi inhibitör etkiyi gösterdiği saptanmıştır.

Başaran vd. (2011)'nin yaptıkları bir çalışmada, karayosunlarından *Grimmia pulvinata*, *Tortula subulata*, *Weisiacontroversa*, *Leucodonsciuroides*, *Homalothecium cupressiforme*, *Homalothecium sericium*, *Neckera complanata* ve *Mnium undulatum*'un disk difüzyon yöntemiyle çeşitli Gram (-) bakteri, Gram (+) bakteri ve 3 zararlı mantara karşı antimikrobiyal aktivitesi ölçüldüğünde karayosunlarının metanol özütleri zayıf bir antifungal etki gösterip Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı çoğunlukla orta derece antibiyotik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. En duyarlı mikroorganizmaların ise Gram (+) *B.subtilis* ve Gram (-) *P. aeruginosa* olduğu bulunmuştur

Alam vd. (2012) *Entodon nepalensis*'in etanolik ve metanolik özütlerinin antibakteriyel aktivitesi, kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak üç bakteri türünde denenmiştir. Çalışmada, etanolik bitki özütlerinin, metanolik bitki özütlerinden daha güçlü bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. En az etkiyi *Bacillus subtilis* ve *Salmonella typhimurium* gösterirken, en fazla etkiyi ise *Escherichia coli* göstermiştir.

Öcalan (2012) yapılan çalışmada karayosunlarının sekonder metabolitleri ve antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada disk difüzyon yöntemi kullanılarak bazı karayosunu türlerinin etanol ve metanol özütlerinin *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aureginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmalar sonucu karayosunlarında antimikrobiyal etkiye neden olan aromatik bileşikler, terpenoitler ve yağ asitleri bulunduğu gözlenmiştir.

Tekerlek (2013) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 5 farklı bryofit türünün (*Dicranum scoparium*, *Racomitrium canescens*, *Neckera complanata*, *Isothecium myosuroides*, *Chilochyphus polyanthos*) antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon metodu ve minimal inhibisyon konsantrasyonu belirlenmesi metotları kullanılarak araştırılmıştır. Bu çalışmada bitkilere ait özütler maserasyon yöntemi ile 5 farklı

çözücü kullanarak (etanol, metanol, dH<sub>2</sub>O, aseton, kloroform) 30°C ve 40°C sıcaklıklarda 2, 3, 4 ve 5 saatlik sürelerde elde edilmiştir. Kullanılan özütler *Proteus mirabilis* 235 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 suşları üzerinde etki göstermiş ve bu iki bakteri suşu, biryofit özütlerine karşı duyarlı olarak belirlenmiştir. Ancak *Candida albicans* ATCC 26231 üzerinde hiç etki tespit edilmemiş ve bu suş en dirençli suş olarak belirlenmiştir.

Tosun vd. (2015) yaptıkları çalışmada *Eurhynchium striatum*, *Eurhynchium. Angustirete* ve *Pseudoscleropodium purum*'un tüm parçalarından elde edilen, ucucu yağların kimyasal kompozisyonu GC-FID ve GC-MS cihazı tarafından analiz edilmiştir. Bileşikler sayılmış ve yağlarda %99,7, %93,3 ve %99,9 olduğu tespit edilmiştir. Sırasıyla  $\alpha$ -pinen (%16,1), 3-octanone (%48,1) ve eicosane (%28,6) olmak üzere 3 ana bileşen olduğunu bulmuşlardır. Ucucu yağlar aynı zamanda dokuz suş üzerinde mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak test edilmiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ile 278,2 ile 2225 µg/ml aralığında antibiyotik aktivitesi olduğu görülmüştür. Antitüberküloz aktivitesini ise 278.2-512.0 ug/ml aralığında *Mycobacterium smegmatis* tekrarlamıştır.

Bitki kökenli kimyasalların analizinde önemli bir bitki bileşeni olarak alkaloidler, flavonoidler, terpenoidler ve glikozit varlığı doğrulanmıştır. Antibiyotik aktivitesinde özütlerin inhibisyonu en az bir mikroorganizmaya karşı duyarlı olduğu zon aracılığı ile kanıtlanmıştır. Dolayısıyla, karayosunları arasındaki potansiyel antibiyotik aktiviteleri kaydedilip gelecekteki gelişmiş kimyasal özellikleri daha belirgin bir şekilde bulunabilir.

Bu çalışmanın amacı; gelecekte gıda zehrlenmeleri veya gıda bozulmalarına yol açan zararlı patojenlere karşı doğal olarak bitki kökenli maddeler elde etmek ve gıdaların raf ömrünün uzmasını ve bozulmasını engelleyici özellikler sağlamaktır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Karayosunu Örnekleri

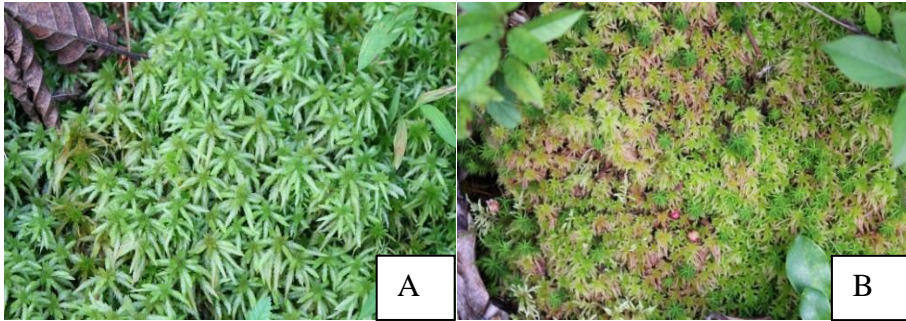
Tez çalışmasında kullanılan karayosunu örnekleri Çizelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez Çalışmasında Kullanılan Karayosunu Örnekleri

Familiya	Karayosunu türleri	Lokasyon	Toplanma tarihi
<i>Sphagnaceae</i>	<i>Sphagnum capillifolium</i>	GİRESUN: TİREBOLU, YEŞİLPINAR KÖYÜ, 40°54'39.8"N; 38°53'49.5"E, 300 M, ASİDİK ISLAK TOPRAK BANK, M. KIRMACI (AYDN 3238);	26.Ağu.2011
	<i>Sphagnum central</i>	GİRESUN: TİREBOLU, YEŞİLPINAR KÖYÜ, 40°54'39.8"N; 38°53'49.5"E, 300 M, ASİDİK ISLAK TOPRAK BANK, M. KIRMACI (AYDN 3237);	

##### 3.1.2. Örneklerin Teşhisi

Toplanan karayosunu örnekleri araziden geldikten hemen sonra ilgili flora kitapları ve revizyonel çalışmalar kullanılarak tayin edilmiştir.



Kaynak: (Foto: Doç.Dr. Mesut KIRMACI, 2014 ).

Şekil 3.1. Sırasıyla, *Sphagnum centrale* (A) ve *S. capillifolium*'un (B) Genel Görünümü

### 3.1.3. Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücüler

Karayosunu örneklerinden ekstraksiyon yapılması amacıyla etil asetat, metanol, petrol eteri ve diklorometan olmak üzere 4 adet çözücü seçilmiştir.

#### 3.1.3.1. Petrol eteri

Gazyağı kokulu renksiz, şeffaf bir sıvıdır. Özellikle pentan ve hekzan karışımından oluşur. Etanol içinde çözünür, suda çözünmez.

#### 3.1.3.2. Etil asetat

$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$  formülüne sahip bir organik bileşiktir (sistemik adıylae**til etanoat**, kısaltılmış yazımıyla **EtOAc** veya **EA**). Bu renksiz sıvı bileşik, bazı yapıştırıcılar ve aseton gibi armut suyuna benzer tatlı bir kokuya sahiptir.

#### 3.1.3.3. Diklorometan

Doğada bulunmayan sentetik bir kimyasal maddedir. Renksiz, yumuşak tatlımsı bir kokuya sahiptir. Oda sıcaklığında sıvıdır.

#### 3.1.3.4. Methanol

Saf metanol 1 atm'de  $64,6^\circ\text{C}$  kaynayan akışkan bir sıvı olup, parlak olmayan mavimsi bir alevle yanar. Bütün organik çözücülerde her oranda çözünür.

### 3.1.4. Mikroorganizmalar

Biryofitlerden elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri 15 farklı mikroorganizma üzerinde belirlenmiştir. Bu mikroorganizmalar ve üredikleri ortam şartları Çizelge 3.2. de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Deneyde Kullanılan Bakteriler, Besi Yerleri ve Üreme Sıcaklıkları

Bakteri	Agar	Sıcaklık
1. <i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	N.A	30°C
2. <i>Serratia marcescens</i> (toprak izolatu)	N.A	37°C
3. <i>Pectobacterium carotovorum</i> DSM 30168	N.A	30°C
4. <i>Listeria monocytogenes</i> (gıda izolatu)	B.H.I	37°C
5. <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299	B.H.I	37°C
6. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	B.H.I	37°C
7. <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	B.H.I	37°C
8. <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	B.H.I	37°C
9. <i>Listeria innocua</i> DSM 20649	B.H.I	37°C
10. <i>Brochothrix thermosphacta</i> DSM 20171	C.A	37°C
11. <i>Cellulomonas fimi</i> DSM 20114	T.S.Y.E	30°C
12. VRE (Vancomycin dirençli <i>Enterokok</i> )	BHI	37°C
13. DSMZ 22 <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	N.A	55°C
14. <i>Bacillus thurigiensis</i>	N.A	37°C
15. <i>Bacillus subtilis</i>	N.A	37°C

#### 3.1.4.1. *Escherichia coli*

*Enterobacteriaceae* familyasının bir üyesi olan *Escherichia coli*, anaerob ve gram negatif bir bakteridir. Genellikle insan bağırsaklarında yaşar. Gastrointestinal sistemde bol miktarda bulunurlar ve bakteriyel enfeksiyon, neonatal menenjit, üriner sistem enfeksiyonu ve gastroenterite neden olmaktadır (Altuner, 2008).

#### 3.1.4.2. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcaceae* familyasına mensup, gram pozitif bir bakteri olup kok şeklindedir. İnsan derisi ve mukozasında koloni oluşturabilen bir bakteridir. İnsan

vücuduna girdiği takdirde hastalık yapabilmektedir. *S. aureus* cilt kabarıklığı, impetigo, yanık, selülit, çıban, haşlanmış deri sendromu, apseler gibi hafif deri enfeksiyonlarının yanı sıra, pnömoni, menenjit, osteomyelit, toksik şok sendromu ve septisemi gibi ciddi hastalıklara da neden olabilmektedir(Altuner 2008).

#### **3.1.4.3. *Bacillus cereus***

*Bacillaceae* familyasına ait gram pozitif aerobik veya fakültatif bir anaerobik bakteridir. Spor oluşturur ve çubuk şeklindedir. Pirinç tabanlı yemekler sonucu olan gıda zehirlenmesine neden olur. Organizmada sırasıyla kusma veya ishal gerçekleşir.

#### **3.1.4.4. *Serratia marcescens***

*Enterobacteriaceae* familyasına ait gram negatif, çubuk şeklinde bakteridir. Bir insan patojenidir ve enfeksiyonları özellikle kateter ilişkili bakteriyemi, idrar yolu enfeksiyonları ve yara enfeksiyonlarına neden olur.

#### **3.1.4.5. *Pectobacterium carotovorum***

*Enterobacteriaceae* familyasına ait ve birçok tarımsal bitkide patojen bakteridir. Bitki hücrelerinden olan pektin arasında bu pectolytic enzimler üretir. Özellikle, patates ve diğer sebzelerde vasküler nekroz ve blackleg'e neden olur bu nedenle adı carotovora yani "havuç yiyen"dir. Ayrıca pek çok farklı ağaç türleri üzerinde de bulunur.

#### **3.1.4.6. *Listeria monocytogenes***

*Listeria monocytogenes*, Gram pozitif, fakültatif anaerobik, kapsülsüz ve sporsuz bir bakteridir. İnsan ve hayvanlar için oldukça patojen bir türdür. *Listeria monocytogenes*, çevreye geniş ölçüde yayılabilen ve buzdolabı sıcaklığında dahi gelişebilen, soğutma, dondurma, ısıtma ve kurutma işlemleri gibi olumsuz koşullara rağmen canlılığını koruyabilen ve halk sağlığı açısından önemli bir patojen bakteridir.

#### **3.1.4.7. *Enterococcus faecalis***

*Enterobacteriaceae* familyasına ait gram pozitif bir bakteridir. İnsan ve diğer memelilerin sindirim sisteminde yaşar

#### **3.1.4.8. *Micrococcus luteus***

*Micrococcaceae* familyasına ait gram pozitif, zorunlu aerob bir bakteridir. Memeli derisinde normal floranın bir parçası olarak yaşar. Toprakta, tozda, su ve havada bulunabilir. 1928 yılında penisilini keşfetmeden önce Alexander Fleming tarafından keşfedilmiştir.

#### **3.1.4.9. *Listeria innocua***

Gram pozitif, çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik ve spor oluşturmeyen bakterilerdir.

#### **3.1.4.10. *Brochothrix thermosphacta***

Gram pozitif, çubuk şeklinde, hareketsiz, spor formu olmayan fakültatif anaerob ve psikotropik organizmalardır, et ürünlerinde ilgili hazır ve vakumlanmış paket etlerde sık sık içinde bozulmaya neden olmaktadır. Mevcut yüksek CO<sub>2</sub> konsantrasyonu içinde ve 4°C altında tüketilen O<sub>2</sub> gelişme yetenekleri bu koşullarda bu yiyeceklerde *B. thermosphacta* 'ların gelişmeleri sona ermektedir. *B.thermosphacta* aerobik ve anaerobik saklanan etlerde sık sık mikrobiyolojik bozulmaya yol açmaktadır. Etanol (anaerobik gelişmede), laktik asit, diasetil (aerobik gelişmede) ve aseton gibi istenmeyen uçuşu bileşikler üretir.

#### **3.1.4.11. *Cellulomonas fimi***

Actinobacteria familyasına ait Gram (+) bir bakteridir.

#### **3.1.4.12. VRE (*Vancomycin dirençli enterokok*)**

Enterokoklar tek tek veya çift olarak kısa zincirler halinde bulunan Gram pozitif koklardır. Morfolojik olarak streptokoklardan ayrılmaları zordur. Fakültatif anaerob bakterilerdir. Kanlı jelöz agar da koloniler büyükçe, gri renkli, parlak, buğulu görünümündedir. Katalaz negatiftir, fakat bazı kökenlerinde 'pseudo catalase' yapımı vardır. 10-45°C arasında üreyebilir, % 6.5'lük NaCl'lü ortamda üremeyi sürdürebilir, 60°C'de 30 dakika canlı kalabilir ve eskulini hidrolize edebilir. Glikozdan gaz oluşturmamaları *Leuconostoc* cinsinden ayırmada önemlidir.



#### **3.1.4.13. *Geobacillus stearothermophilus***

Gram pozitif çubuk bir bakteridir. Yaygın olarak toprak kaplıcalar, okyanus birikintilerinde bulunur. Gıda ürünlerinde bozulma nedenidir. 30°C ve 75°C bir sıcaklık aralığı içinde büyür.

#### **3.1.4.14. *Bacillus thurigiensis***

Gram (+), toprakta yaşayan bir bakteridir. Çeşitli güve ve kelebek türlerinin tırtıllarının bağırsaklarında, yaprak yüzeylerinde, sucul ortamlarda, hayvan dışkısında, böcek popülasyonunun yoğun olduğu ortamlarda, un değirmenleri ve tahıl depolama tesislerinde doğal olarak bulunmaktadır.

#### **3.1.4.15. *Bacillus subtilis***

Gram pozitifdir. Doğada çok yaygın olarak bulunur. Gözde enfeksiyonel rahatsızlıklara yol açar.

### **3.1.5. Besiyerleri**

Bakterilerin gelişimini sağlamak için Müller Hinton Agar (MHA) kullanılmıştır. Besiyerinden 17,0 g tartılır ve üzerine 500 mL distile su konular gerekirse ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilerek deneylerde kullanılır hale getirilmiştir.

## **3.2. Metod**

### **3.2.1. Ekstraksiyon Öncesi Hazırlık**

Karayosunu örnekleri ekstraksiyon öncesinde yabancı maddelerden (yaprak, toprak, çalı vb.gibi) arındırıldıktan sonra dinlendirilmiş çeşme suyu ile yıkanarak paketlenmiş ve denemeler yapılincaya kadar -80'de saklanmıştır.

### **3.2.2. Karayosunlarından Özütlelerin Elde Edilmesi**

Ayıklanan ve kurutulanan bitki örnekleri çözücü-örnek karışımları 1:1 (ml/mg) olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan çözücü örnek karışımları vorteks ile karıştırılıp en az 3 gün +4°C de muhafaza edilmiştir. Ara ara kontrolleri yapılmıştır

ve değişim sonunda süzüntüler evaporatörden geçirilerek, özütleri çıkarılmış ve çalışmaya hazır hale getirilmiştir.

Sonrasında dinlendirilmiş çeşme suyu ile yıkanarak paketlenmiş ve denemeler yapıncaya kadar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır..

### 3.2.3. Karayosunlarının Ekstraksiyonu

$-80^{\circ}\text{C}$ 'de dondurulmuş olan materyal liyofilizatör yardımı ile kurutulmuştur. Karayosunlarının liyofilizasyon öncesi yağ ağırlıkları ve liyofilizasyon sonrası kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra soksalet, çalkalayıcı ve evaporatör kullanılarak; Petrol eteri, Etil asetat, Diklormetan ve Metanol özütleri hazırlanmıştır. Ekstraksiyon için kullanılmış olan bu çözücüler polarite özellikleri göz önünde bulundurularak seçilmiştir.



Şekil 3.2. Kullanılan Evaporatör Cihazı

### 3.2.4. Çözücülerin Uzaklaştırılması

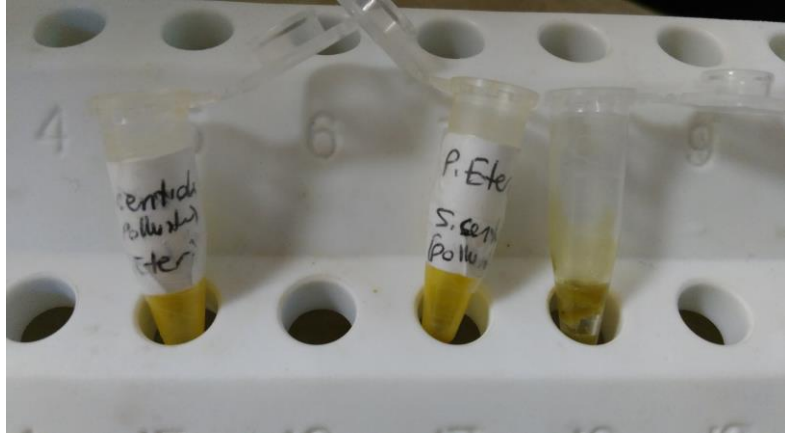
#### 3.2.4.1. Petrol eteri özütü

Kaynama noktası:  $30-40^{\circ}\text{C}$

Dielektrik sabitesi: 2-2,2

Kurutulmuş örneğin ekstraksiyonu soksalet cihazında 10 ml/g olacak şekilde Petrol eteri ile yıkanarak yapılmıştır. Ekstraksiyona örnek haznesindeki eter renksiz oluncaya kadar devam edilmiştir. Örnekleri güneş ışığının etkisinden

korumak için, soksalet alüminyum folyo ile kaplanmış. Ekstraksiyon tamamlandıktan sonra eter, evaporatör ile 40°C’de uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.3. Petrol eteri özütleri

#### 3.2.4.2. Etil asetat özütü

Kaynama noktası: 76,5-77,5°C

Dielektrik sabitesi: 6

Formül:  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$

Soksalet kartuşunda kalan karayosunu kalıntısı kurutularak 10 ml/g olacak şekilde etil asetat ile karanlıkta muamele edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi ağzı kapaklı erlenlerde, oda sıcaklığında ve çalkalanarak yapılmıştır.

Karayosunu kalıntısı, özütler renksizleşinceye kadar tekrar tekrar etil asetat ile muamele edilmiş ve elde edilen özütler, filtre kâğıdından süzülerek birleştirilmiştir. Etil asetat, evaporatörde 75°C’de buharlaşmaktadır.

#### 3.2.4.3. Diklormetan Özütü

Kaynama noktası: 39,8-40°C

Dielektrik sabitesi: 9,1

Formül:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

Kurutulmuş örneğin ekstraksiyonu; 10 ml/g çözücü olacak şekilde soksalet yardımı ile yapılmıştır ve çözücü evaporatörde 40 °C'de uzaklaştırılmıştır.



Şekil 3.4. Diklorometan özütleri

#### 3.2.4.4. Metanol özütü

Kaynama noktası: 64,7°C

Dielektrik sabitesi: 32,6

Formül: CH<sub>3</sub>OH

Diklorometan ekstraksiyonundan çıkan Karayosunu kalıntısı kurutulmuş olarak 10 ml/g olacak şekilde metanol ile karanlıkta muamele edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi ağzı kapaklı erlenlerde, oda sıcaklığında ve çalkalanarak yapılmıştır. Karayosunu kalıntısı özütler renksizleşinceye kadar tekrar tekrar metanol ile muamele edilmiş ve elde edilen özütler, filtre kâğıdından süzülerek birleştirilmiştir. Metanol, evaporatörde 65°C'de uzaklaşmaktadır.



Şekil 3.5. Metanol özütləri

Elde edilen özütlər tartımları yapılarak kapaklı tüplerin içərisinə alınmış və aktivite kaybına engel olmaq amacıyla  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmışdır.

Çizelge 3.3. *Sphagnum capillifolium* ve *S.centrale*'nin Yaş ve Kuru Ağırlıklarına Göre Çıkan Özüt Miktarları

<i>Sphagnum capillifolium</i>				<i>Sphagnum centrale</i>			
Yaş (g)	Kuru (g)	Çıkan özüt miktarı (g)		Yaş (g)	Kuru (g)	Çıkan özüt miktarı (g)	
14	2	Petrol Eteri	0,08	17	4	Petrol Eteri	0,06
		Diklormetan	0,09			Diklormetan	0,12
		Etil asetat	0,09			Etil asetat	0,16
		Metanol	0,16			Metanol	0,42

### 3.2.5. Elde Edilen Özütlərin Ayrılması

Kullanılan çözücü miktarlarına bağlı olarak elde edilen çözünmüş karayosunu yoğunluğu, kuru ağırlık göz önünde bulundurularak g/ml cinsinden stok değər olarak hesaplanmışdır. Yine karayosunlarının etkileri arasında karşılaştırma sağlayabilmek amacıyla kullanılan çözücü miktarlarının eşit olmasına dikkat edilmiş veya stok çözeltiler eşit değərlerde hazırlanmışdır. Buradan elde edilen ekstratlar  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmışdır

### 3.2.6 Antimikrobiyal Aktivite Taranması

Aktivite taraması için *S. capillifolium* ve *S. centrale* den 4 ayrı kimyasalla (metanol, etil asetat, diklormetan, petrol eteri) hazırlanıp elde edilen elstratlar kullanılarak % 6'lık bir çözelti yapılmış ve vortekslenmiştir.

Özütlerin aktivitesinin belirlenmesi için indikatör bakteri uygun besi ortamlarında (MRS, BHI, NA ) 24 saatlik kültürlerinden 1 ml. steril distile suda 0,5 MacFarland bulanıklığına eşdeğer süspansiyonlar hazırlandı. Bu süspansiyonlar swab ile Muller Hilton Agar 'a yayma ekim yöntemiyle ekildi. Kuyucuk difüzyon yöntemi ile petrilere 8'e bölünerek 4 mm çaplı steril agar delici ile besi ortamlarında kuyucuklar açıldı. Önceden hazırlanmış olan örnekler her kimyasaldan 2 şer tekrarlı olmak üzere kuyucuklara 50 µl konuldu. Petrilere +4°C'de 2 saat bekletildikten sonra indikatör bakterilerin optimum üreme ortamlarında inkübe edildi ve ertesi gün oluşan zonların çapları ölçüldü. İndikatör bakteri olarak *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Serratia marcescens*, *Pectobacterium carotovorum* DSM 30168, *Enterococcus faecalis* ATCC 51299, *Listeria monocytogenes* (gıda izolatu), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Listeria innocua* DSM 20649, *Brochothrix thermosphacta* DSM 20171, *Cellulomonas fimi* DSM 20114, VRE (Vancomycin dirençli Enterokok), *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus thuringiensis* ve *Bacillus subtilis* kullanıldı.

## 4. BULGULAR

Tez çalışması 4 temel aşamada gerçekleştirilmiştir.

1. Materyalin toplanması teşhis edilmesi ve herbaryumlarının gerçekleştirilmesi
2. Bitki özütlerinin hazırlanması,
3. Mikroorganizmaların ekileceği petrilerin hazırlanması,
4. Kuyucuk yöntemiyle özütleri yükleme aşamasıdır.

Çalışmadan elde edilen bulgular kullanılan karayosunu türü, özüt tipi-konsantrasyonu, üreyen bakteriler ve oluşan zonlar şeklinde aşağıda sunulmuştur.

### 4.1. *Sphagnum capillifolium* Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

#### 4.1.1. *S.capillifolium* ' un Yapılan Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Yapılan çalışmada *S. capillifolium* özütlerinden hazırlanmış *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Listeria innocua* DSM 20649, *Geobacillus stearothermophilus*, *Bacillus thurigiensis*, *Bacillus subtilis* suşları üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri olduğu belirlenmiş ve Çizelge 4.1'de sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.1. *S.capillifolium*' dan Elde Edilen Özütlerin Test Sonuçları

	<i>Mikroorganizmalar</i>	İnhibisyon Zon Çapları (mm)			
		Petrol eteri	Etil asetat	Diklorometan	Metanol
1	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	—	7	—	9
2	<i>Pectobacterium carotovorum</i> DSM 30168	—	—	—	—
3	<i>Cellulomonas fimi</i> DSM 20114	—	—	—	—
4	<i>Serratia marcescens</i>	—	—	—	—
5	<i>Listeria monocytogenes</i>	6	7	7	6
6	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 ATCC 51299	—	—	—	—
7	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6	7	8	7
8	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	—	—	—	—
9	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	—	—	—	—
10	<i>Listeria innocua</i> DSM 20649	6	6	6	6
11	<i>Brochothrix thermosphacta</i> DSM 20171	—	—	—	—
12	VRE ( <i>Vancomycin dirençli Enterokok</i> )	—	—	—	—
13	<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	—	—	13	16
14	<i>Bacillus thuringiensis</i>	—	8	—	8
15	<i>Bacillus subtilis</i>	7	—	8	8

## 4.2. *Sphagnum centrale* Özütlerinin Antimikrobiyal Aktivitesi

### 4.2.1. *Sphagnum centrale*'de Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Yapılan çalışmada *Sphagnum centrale* ile hazırlanmış özütlerin *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria innocua* DSM 20649, *Geobacillus stearothermophilus* suşları üzerinde antimikrobiyal aktiviteleri olduğu belirlenmiş ve Çizelge 4.2'de sonuçlar verilmiştir.



Çizelge 4.2. *S.centrale*'den Elde Edilen Özütlerin Test Sonuçları

	<i>Mikroorganizmalar</i>	İnhibisyon Zon Çapları (mm)			
		Petrol eteri	Etil asetat	Diklorometan	Metanol
1	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	—	7	—	9
2	<i>Pectobacterium carotovorum</i> DSM 30168	—	—	—	—
3	<i>Cellulomonas fimi</i> DSM 20114	—	—	—	—
4	<i>Serratia marcescens</i>	—	—	—	—
5	<i>Listeria monocytogenes</i>	6	7	7	6
6	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 51299 ATCC 51299	—	—	—	—
7	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	—	—	—	—
8	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	—	—	—	—
9	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	—	—	—	—
10	<i>Listeria innocua</i> DSM 20649	7	6	6	6
11	<i>Brochothrix thermosphacta</i> DSM 20171	—	—	—	—
12	VRE ( <i>Vancomycin dirençli Enterokok</i> )	—	—	—	—
13	DSMZ 22 <i>Geobacillus stearothermophilus</i>	—	20	16	20
14	<i>Bacillus thurigiensis</i>	—	—	—	—
15	<i>Bacillus subtilis</i>	—	—	—	—

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antimikrobiyal ve antifungal çalışmalar uzun yıllar çalışılmaya devam edilmiştir. Bu çalışmalar kapsamında çeşitli karayosunu özütleri kullanılmaktadır. Karayosunlarının çok eski zamandan beri tedavi edici antimikrobiyal antifungal ve antikanser özelliği olduğu bilinmektedir. Bu çalışmalar ışığında tez sonuçları karşılaştırılmış ve önemli bir sonuç elde edilmiştir.

2007 yılında Singh ve arkadaşları'nın yaptıkları bir çalışmada 13 karayosunun etanolde ekstrakte edilip antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri 19 mikroorganizma için mikrodilüsyon yöntemi ile incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda 6 mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal olarak en aktif tür olduğu bulunmuştur. Enfeksiyon tedavisi ve insan cilt hastalıklarında kullanılan *S. junghuhnionum*, *B. javanica*, *B. rutabulum*, *B. arcuata*, *M. marginatum*, *E. rubicundus* gibi bazı türlerin bu sonucu haklı kıldığı gözlenmiştir

Kong ve arkadaşları (2007) tarafından bir karayosunu türü olan *Hylocomnium splendens*'in antibakteriyel aktivitesini belirlemek için bitki örneğinin beş farklı çözücüde (n-hekzan, diklorometan, 32 etilasetat, n-butanol ve su çözücüsü) özütü hazırlanmış. Karayosununun antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemiyle ölçtüklerinde *H. splendens*'in Gram (-) bakterilerin hiçbirine karşı aktivite göstermezken Gram (+) bakterilere karşı aktivite gösterdiği bulunmuştur. Çalışılan taksonun özellikle *Staphylococci*'ye karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği gözlenmiştir. *H. splendens*'in beş tane özüt arasında özellikle etil asetat özütünün dört tane Gram (+) bakteriyeye karşı yüksek aktivite gösterdiği gözlenmiştir.

*Tortella squarrosa* üzerine yapılan bir diğer çalışmada 11 bakteri suşu kullanılmış ve antimikrobiyal aktivitesi belirlenmiştir. Sonuç olarak *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter cloacae*'nin daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir. *Artemisia absinthium*'dan hazırlanan özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri Disk Difüzyon yöntemiyle test mikroorganizmalarına karşı denenmiştir. Bulgular, bazı Gram (+) ve (-) bakterilere karşı antimikrobiyal bir aktivite göstermesine rağmen kullanılan maya kültürlerine karşı antifungal bir aktiviteye sahip olmadığı göstermiştir.

Bu tez çalışması kapsamında *Sphagnum karayosunu* (*S. capillifolium* ve *S. centrale*) türlerinin 15 mikroorganizmaya karşı farklı özütlerinin antimikrobiyal

aktiviteleri ölçülüp, dört farklı çözücü (petrol eteri, etil asetat, diklorometan, metanol) ile elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktiviteleri kuyucuk metodu ile belirlenmesi yöntemleri ile tespit edilmiştir.. Çeşitli gıda zehirlenmeleri ve gıdaların bozulmasına neden olan bakterilerin üremelerini inhibe ettiği görülmüştür.

Çalışmamızda kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılmış ve bu yöntem ile antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinen biryofitlerin etki değerleri de gözlemlenmiştir. Disk difüzyon yöntemi gibi kuyucuk difüzyon yöntemi dekolay uygulanabilen difüzyon temeline dayalı bir yöntemdir. Özellikle topikal ajanların test edilmelerinde ve bitkisel ilaçların antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasında kullanıla gelmiştir (Eren, A., Kalkancı, A. 2002). Bu yöntemle kullanılan biryofitlerin farklı çözücülerde özütleri elde edilmiştir ve değişen oranlarda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında *Geobacillus stearothermophilus* suşuna karşı *Sphagnum centrale*'de elde edilen özütlerden etil asetat 20 mm, diklorometan 16 mm ve methanol 20 mm inhibisyon zon çapı ile en yüksek aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir.

*Bacillus cereus* ATCC 11778 suşuna karşı *S.centrale*'den edilen özütlerden sırasıyla etil asetat 7 mm, metanol 9 mm ve *S. capillifolium*'dan elde edilen özütlerden *Bacillus cereus* ATCC 11778 suşundan sonuçlar ise etil asetat 7 mm, metanol 9 mm inhibisyon zon çapında olduğu görülmüştür.

*Listeria monocytogenes* ise, *S. centrale*'den elde edilen özütlerden petrol eteri 6 mm, etil asetat 7 mm, diklorometan 7 mm ve metanol 6 mm inhibisyon zon çapında olduğu gözlemlenmiştir. Yine aynı sıcaklıkta *Staphylococcus aureus* suşunun *S. capillifolium*'un özütlerinde petrol eteri 6 mm, etil asetat 7 mm, diklorometan 8 mm, metanol 7 mm ve *Listeria innocua* suşunda ise *S. centrale* petrol eteri 7 mm, etil asetat 6 mm, diklorometan 6 mm, methanol 6 mm, *S. capillifolium* özütlerinde ise petrol eteri 6 mm, etil asetat 6 mm, diklorometan 6 mm, metanol 6 mm olduğu saptanmıştır.

*Geobacillus stearothermophilus* suşunda *S.centrale*'de antimikrobiyal aktivite sonuçları diğer tüm sonuçlara göre en fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar etil asetat 20mm diklorometan için 16mm methanol için ise 20mm olarak sonuçlanmıştır.

*S.capillifolium* özütlerinden ise sadece diklorometan ve metanol özütleri sonuç vermiştir. Bu sonuçlar sırası ile 13 mm ve 16 mm olarak kaydedilmiştir.

Çalışma sonucunda tüm sonuçlar Gram (-) bakterilerde olumsuzken Gram (+) bakterilerde olumlu sonuçlanmıştır. Sebebi Gram (+) bakterilerin hücre duvarının yapısının ve peptidoglikan tabakanın farkından kaynaklanmaktadır. Bu sonucun nedeninin fizyolojik olarak Gram (+) bakterilerin üzerinde yalnız peptidoglikan tabakası bulunurken, Gram (-) bakterilerin üzerinde bir dış tabaka daha olduğunu neden olarak gösterilmiştir (Russell vd., 2007).

Yapılan çalışmada *Sphagnum centrale* ve *S. capillifolium* karayosunlarından elde edilen özütler, *Pectobacterium carotovorum* DSM 3016, *Cellulomonas fimi* DSM 20114, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Bacillus thermosphata* suşlarında hiç bir etki oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmada denenen iki *Sphagnum* türünden elde edilen özütlerin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Yapılan tez çalışmasında elde edilen ekstratlar *Listeria monocytogenes* ve *Listeria innocua* suşları üzerinde benzer etki göstermişlerdir ve bu bakterilerin bryofit özütlerine karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir. *Listeria monocytogenes* özellikle gıda patojenidir ve gıda zehirlenmelerinde ciddi problemlere yol açmaktadır. *Geobacillus stearothermophilus* ise konserve gıdalarda bozulmalara yol açmaktadır. Tez çalışması sonucu özellikle bu iki bakteride özütler sonuç vermiştir. Gelecekte gıda zehirlenmelerine yol açan bu bakterilerin üremesini azaltabilir, konserve gıdaların raf ömrü uzatılabilir.

Karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalar, bu bitki grubunun antimikrobiyal ilaç üretiminde çok iyi ve yeni kaynaklar olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmaların devamında mikroorganizmalar üzerinde etki gösteren aktif maddelerin tespit edilmesiyle, günümüzün büyük problemi olan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençliliğine çözüm getirilebileceği düşünülebilir. Yapılan araştırmalarda bulunan birçok sonuç karayosunlarında antimikrobiyal aktivitenin bulunurken doğru solvent doğru ekstraksiyon yöntemi ve karayosunlarının toplandığı yerinde önemli olduğunu göstermektedir. Geleneksel tıpta bu gibi bulunan sonuçlar sentetik ilaçların üretilip bitkisel tedaviye olanak sağlamaktadır. Bu sonuçlar aynı zamanda diğer Bryofitler üzerinde çalışmak için fırsat sunmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Abascal, K., Yarnell, E. 2002. "Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes", **Alternative & Complementary Therapies 1**, 237-241.
- Abay, G., Keçeli, T. 2014. *Sphagnummolle (Sphagnaceae, Bryophyta)* in Turkey and SW Asia. **Cryptogamie, Bryologie**, 35(1):105-112.
- Alam A, Sharma V, Sharma SC., Kumari P, (2011) Antibakteriyel activity of the alcoholic extracts of *Entodon nepalensis* Mizush. against some pathogenic bacteria **Department Of Bioscience And Biotechnology, Banasthali University, India** 2011;4: 10.
- Alanyalı, F. S., Sarıözlü, N. Y., Güven, A., Kıvanç, M., Yılmaz, M., Demirel, R., Güven, K. ve Mutlu, M.B., 2009. Gıda Muhafaza, Anadolu Üniversitesi Web-Ofset Tesisleri, Eskişehir.
- Altundağ, Ş. Aslım, B. 2005. Kekiğin Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisi. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, 03: 12-14.
- Altuner, E. M. Çetin, B., Çökmüş, C., 2010. "Tortella tortulosa (Hedw.) Limpr. antimikrobiyal aktivitesi", **Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi** 10(2), 111-116.
- Altuner, E.M., 2008. Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Doktora Tezi, A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ando, H., Matsuo, A. 1984. Applied bryology. In: Cramer J, editor. **Advances in Bryology**, vol. 2. Vaduz, West Germany: Schultze- Motel W.
- Anonymous, (2009). Plant Secondary Metabolites. <http://www.novafeel.com/nutrition/plant-secondarymetabolites.htm> (Erişim tarihi: 04/08/2016).
- Asakawa Y. 1990. Biologically active substances from bryophytes. In: Chopra RN, Bhatla SC, editors. Bryophyte Development: **Physiology and Biochemistry**. Boston: CRC Press.
- Asakawa, Y. 1981. Biologically active substances obtained from bryophytes. **The Journal of the Hattori Botanical Laboratory**, 50: 123-142.

- Asakawa, Y. 1988. Biologically active substances found in Hepaticae. In: **Studies in Natural Products Chemistry**, Rahman, Editor, Amsterdam: Elsevier.
- Asakawa, Y., Ludwiczuk, A., Nagashima, F. 2013. "Phytochemical and biological studies of bryophytes", **Phytochemistry** 91, 52-80.
- Aslan, G. 2014 *Sphagnum capillifolium* (Ehrh.) ve *S.centrale* (C.E.O. Jensen.) (*Bryophyta*)'nın anti-kanser aktivitesinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 82, Aydın.
- Aslan, G. Özmen, A. Kırmacı, M. 2012. Biryofitlerin Kimyasal İçerikleri ve Tıbbi Önemi **21. Ulusal Biyoloji Kongresi** (03-07 Eylül), Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye
- Atherton, I.,Bosonquet, S. ve Lawley, M., 2010. "Mosses and Livermorts of Britain and Ireland a field guide", **British Bryological Society**, Blight.
- Avcı, M. 2005. Çeşitlilik ve endemizm açısından türkiyenin bitki örtüsü. **Coğrafya Dergisi**, 13: 27-55,
- Bahar, G., 2012. Bitkilerin antimiktobiyal etkileri, Bitirme Tezi, K.S.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi, Kahramanmaraş.
- Balunas, M.J., Kinghorn A.D. 2005. Drug discovery from medicinal plants. **Life Sciences**, 78: 431-441.
- Basile A., Giardano S., Cobianchini C.R., Giardono S., Lavitola A., 1998. Antibacterial activity in *Pleurochaeta squarrosa* extract (Bryophyta) **International Journal of Antimicrobial Agents** 10:169-172.
- Basile, A., Giordano, S., Saez, J.A.L., Cobianchi, R.C., 1999. "Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses", **Phytochemistry** 52, 1479-1482.
- Basile, A., Sorbo, S., Giordano, S, Lavitola, A., Cobianchi, R.C., 1998. "Antibacterial activity in *Pleurochaete squarrosa* extract (Bryophyta)", **International Journal of Antimicrobial Agents** 10(2), 169-172,
- Belkin, M., Fitzgerald, D., Felix, M.D. 1952-1953. Tumor damaging capacity of plant material. II. Plants used as diuretics. **J Natl Cancer Institute**, 13: 741.

- Benli, M. Yiğit, N. 2005. Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymusvulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. **Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi**, 03: 08: 1-8.
- Buck, W.R., Goffinet, B. 2000. Morphology and classification of mosses, in: Shaw, A.J., Goffinet, B. (Eds), **Bryophyte Biology**, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 71–123.
- Cassady, J.M., Chan, K.K., Floss, H.G., Leistner, E. 2004. Recent developments in the maytansinoid antitumor agents. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), 52: 1–26.
- Castaldo-Cobianchi, R., Giordano, S., Basile, A., Violante, U. 1988. Occurrence of antibiotic activity in *Conocephalumconicum*, *Mniumundulatum* and *Leptodictyumriparium* (Bryophyta). **Giorn BotItal**, 122: 303–11.
- Clymo, R.S. 1963. Ion exchange in *Sphagnum* and its relation to bog ecology. **Ann Bot.**, 27: 309–324.
- Crum, H. A. 2001. Structural Diversity of Bryophytes. The University of Michigan Herbarium, Ann Arbor, MI, 379 pp.
- Demirbağ ve ark., 1997; Kırbağ, 1999; Dığrak ve ark. 1999; Kırbağ ve Bağcı, 2000, Sür ve ark., 1998; Özkal, 1986; Matthews ve Haas, 1993; Meriçli, 1986
- Dickson, J. H. 1973. Bryophytes of the Pleistocene. The British Record and Its Chorological and Ecological Implications. Cambridge University Press. pp. 192-195.
- Dulger, B., Yayıntaş, Ö.T., Gonuz, A., 2005 “Antimicrobial activity of some mosses from Turkey”, **Fitoterapia** 76, 730-732., Türkiye.
- Dülger, B. Ceylan, M. Alıtsaous, M. Uğurlu, E. 1999. *Artemisia absinthium* L. (Pelin)’un Antimikrobiyal Aktivitesi. *Tr. J. of Biology* 23, 377–384, © Tübitak, Dierfen, K., “Distribution, ecological amplitude and phytosociological characterization of European bryophytes”, 56:159., **Bryophytorum Bibliotheca**, Berlin, 2001.
- Elibol, B., Ezer, T., Kara, R., Çelik, G.Y, Çolak, E., 2011. “Antifungal and antibacterial effects of some acrocarpic mosses”, **African Journal of Biotechnology** 10(6), 986-989,

- Eren, A., Kalkancı, A., 2002 “ İın-vitro antifungal duyarlılığın araştırılmasında kuyucuk difüzyon yönteminin değerlendirilmesi “ , **Ankem Dergisi**. 16 (No. 1) :56-59,
- Ertürk, Ö. Demirbağ, Z. 2003. *Scorzonare mollis* Bieb(*Compositae*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. **Ekoloji Çevre Dergisi**, 12: 27-31.
- Faydaođlu, E. Sürücüođlu, M. S. 2013. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri ve Kullanım Olanakları. **EÜFBED - Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, Cilt-Sayı: 6-2 233-265.
- Geiger, H., Quinn, C. J. 1988. The flavonoids, advances in research since 1980. London: Chapman and Hall.
- Glime, J.M. 2007. Medicines and antibiotics, in: **Bryophyte Ecology**; available at: <http://www.bryocol.mtu.edu/>. Erişim Tarihi: 01.12.2016.
- Gnanamanichan, S.S., Mansfield, J.W. 1981. Selective toxicity of wyerone and other phytoalexins to gram-positive bacteria. **Phytochemistry**, 20: 997-1000.
- Gradstein, S.R., Griffin, D., Morales, M.I., Nadkarni, N.M. 2001. Diversity and habitat differentiation of mosses and liverworts in the cloud forest of Monteverde. **Caldasia**, 23: 203-212.
- Güner,A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T., 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). NGBB ve **Flora Arřt. Der. Yayını**. İstanbul.
- Gürgün, V. ve Halkman, K., 1990. “Mikrobiyolojide sayım yöntemleri”, **Gıda Teknolojisi Derneđi** 7, 1-6,
- Handel–Mazzetti, H. M. 1909. Ergebnisse einer botanische Reise in des Pontische Randgebirge in Sandschak Trapezunt. **Ann. Nathist. Hofmus**, 23: 124 – 212.
- Harborne, J.B. 1988. Introduction to Ecological Biochemistry. **Academic Press**, London.
- Henderson, D.M., Prentice H.T. 1969. Contributions to the bryopyte flora of Turkey:VIII.-**Notes Roy. Bot. Gard**. Edinburgh 29: 235-262.
- Henderson, D.M., Prentice H.T. 1969a.Contributions to the bryopyte flora of



- Ichikawa, T., Yamada, K., Namikawa, M., Sakai, K., Kondo, K. 1984. New cyclopentanol fatty acid from Japanese mosses. *J Hattory Bot Lab*, 56: 209. Turkey: **VIII. Notes Roy. Bot. Gard.**, 29: 235-262
- Ivanova, V., Kolarova, M., Aleksieva, K., Dornberger, K.J., Haertl, A., Moellmann, U., Dahse, H.M., Chipev, N. 2007. Sanionins: Anti-Inflammatory and Antibacterial Agents with Weak Cytotoxicity from the Antarctic Moss *Sanionia georgico-uncinata*. **Preparative Biochemistry & Biotechnology**, 37: 343–352.
- İlçim, A. Dığrak, M. 1995. Bazı Bitki Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. **Tr. J. of Biology** 22 Tübitak, 119-125, Türkiye.
- İlhan S, F. Savaroğlu, F. Çolak, C. Filik İşçen ve F. Z Erdemgil "Antimicrobial Activity of *Palustriella commutata* (Hedw.) *Ochyra* Extracts (*Bryophyta*)" **Turk Journal of Biology**, 30,149-152 (2006).
- İstanbul. T.P. Tim Cushnie, Andrew J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoid. **International Journal of Antimicrobial Agents** 26, 343–356, Aberdeen.
- Kang, S.J., Kim, S.H., Liu, P., Jovel, E., Towers, G.H.N., 2007. "Antibacterial activities of some mosses including *Hylocomium splendens* from South western British Columbia", **Fitoterapia** 78(5), 373-376,
- Keçeli, T. 2004. "Batı Karadeniz Bölgesi (Bolu-Zonguldak-Bartın-Kastamonu) Ciğerotları (Hepaticae) Florası" Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
- Keleş, O., Ak, S., Bakırel, T., Alpınar, K., 2001. 'Türkiye'de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel incelenmesi", **Turk J. Vet. Anim. Sci.** 25, 559-565,
- Lopez-Saez, J. A. 1996. Biflavonoid differentiation in six *Bartramia* species (*Bartramiaceae*). **Plant Systematics and Evolution**, 203: 83-89.
- Madigan T.M. , Martinko, M.J., 2010. Mikroorganizmaların biyolojisi, 11th ed, Cumhuriyet Çökmüş, Palme yayıncılık, Ankara,
- McCleary, J.A., Sypherd, P.S., Walkington, D.L. 1960. Mosses as possible sources of antibiotics. **Science**, 131: 108.

- Miski, M., Ulubelen, O., Jobanson, C., Mabry, T.J. 1983. **Journal of Natural Products**, 46: 874.
- Onbaşı, D., Altuner, E.M. ve Çelik, G.Y., 2011. “*Minium marginatum* antimikrobiyal aktivitesi”, **Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi** 11(2), 205-208.
- Ootsu, K., Kozai, Y., Takeuchi, M. 1980. Effects of new antimetabolic antibiotics, ansamitocins, on the growth of murine tumors in vivo and on the assembly of microtubules in vitro. **Cancer Res.**, 40: 1707–1717.
- Öcalan, N., 2012 “Karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesi”, Bitirme Ödevi, Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Erciyes, s.6.
- Russell M.D., Antibiotic activity of extracts from some Bryophytes in South Western British Columbia, MSJA, 2000; Volume 2:9-14.
- Sabovljević, A., Sabovljević, M., Grubišić, D., Konjević, R. 2005. The effect of sugars on development of two moss species (*Bryum argenteum* and *Atrichum undulatum*) during in vitro culture. **Belg. Journ. Bot.**, 138: 79-84.
- Samuel Kilcher, Martin J. Loessner, Jochen Klumpp 2010” *Brochothrix thermosphacta* bacteriophages feature heterogeneous and highly mosaic genomes and utilize unique prophage insertion sites” **American Society for Microbiology**, 20: 5441-5453.
- Sasidharan, S., Latha, L.Y., Ping, K.Y. and Lachumy, S.J., 2012 “Screening methods in the study of fungicidal property of medicinal plants”, **Fungicides for Plant and Animal Diseases** 5, 107-118,.
- Savaroglu F, Filik İşçen C, Oztopcu Vatan P, Kabadere S, İlhan S, Uyar R 2011“Determination of Antimicrobial and Antiproliferative Activities of the Aquatic Moss *Fontinalis antipyretica* Hedw.” **Turkish Journal of Biology**, doi:10.3906/biy-0906-46,.
- Sawant, U.J. and Karadge, B.A.,“Antimicrobial activity of some bryophytes (Liverworts and a Hornwort) from Kolhapur District, Pharmacognosy Journal 2(16), 29-32, 2010.

- Saxena, D. K., Harinder. 2004. Uses of Bryophytes. [http://www.researchgate.net/publication/245059476\\_Uses\\_Current\\_Science\\_June2004p56-65/file/72e7e51d6cb9bea847.pdf](http://www.researchgate.net/publication/245059476_Uses_Current_Science_June2004p56-65/file/72e7e51d6cb9bea847.pdf) Erişim Tarihi: 01.12.2016.
- Singh M, Rewat A.K.S, Govindarajan R.,2006 “Antimicrobial activity of some Indian mosses”, **Fitoterapia** 78,2007:156-158.
- Smith, C. J. 1996. Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. **New Phytologist**, 132: 1-45.
- Spjut, R.W., Suffness, M., Cragg, G.M., Norris, D.H. 1986. Mosses, liverworts, and hornworts screened for antitumor agents. **Econ. Bot.**, 40: 310–338.
- Suwanborirux, K., Chang, C.J., Spjut, R.W., Cassady, J.M. 1990. Ansamitocin P-3, a maytansinoid, from *Claopodium crispifolium* and *Anomodon attenuatus* or associated actinomycetes. **Experientia**,46: 117–120.
- Şahin, E., 2006.”Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, s. 4-5.
- Şahin, G., 2007.” Türkiye’den toplanan bazı *Paeonia* türlerinin antibakteriyel etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, s. 2.
- Tekerlek, P., 2013.” Bazı bryofit türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde, s.6.
- Toprakkaya, D. Orhan, M. Güneşoğlu, C. 2003. “Tekstillerde hijyen uygulamaları”**3. Sterilizasyon ve Dezenfeksiyon Kongresi** (2-4 Ekim 2003), Bursa
- Toroğlu, S. ve Çenet, M., “Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler”, **KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi**, 9(2), 12-19, 2006.
- Tosun G., Yaylı B., Özdemir T., Batan N., Bozdeveci A., Yaylı N., 2015 “Volatiles And Antimikrobiyal Activity Of The Essential Oils Of The Mosses *Pseudoscleropodium purum*, *Eurhynchium striatum* and *Eurhynchium angustirete* Grow In Turkey”, **Records Of Natural Products**, vol.9, pp.237-242.

- Uğuz, M.T., “Farklı çözücülerdeki bitki antifungal özellikleri”, **Bingöl Üniv. Fen. Bil. Dergisi** 1(2), 1-3, 2011.
- Veljič, M., Đurič, A., Sokovič, M., Ciric, A., Glamočlija, J. Marin, P.D., 2009. “Antimicrobiyal activity of methanol extracts of *Fontinalis antipyretica*, *Hypnum cupressiforme*, and *Ctenidium molluscum*”, **Arch. Biol. Sci.** Belgrade 61(2), 225-229.
- Wu, P. C. 1982. Some uses of mosses in China. *Bryol. Times*, 13: 5.
- Zheng G.Q., Chang C.J., Stout T.J., Clardy J., Ho D.K., Cassady, J.M. 1993. Ohioensins: novel benzonaphthoxanthenones from *Polytrichum ohioense*. **J. Org. Chem.**,58: 366–372.
- Zheng, G.Q., Chang, C.J., Stout, T.J., Clardy, J., Cassady, J.M. 1989. Ohioensin-A: a novel benzonaphthoxanthenone from *Polytrichum ohioense*. **J. Am. Chem. Soc.**, 111: 5500–5501.
- Zheng, G.Q., Ho, D.K., Elder, P.J., Stephens, R.E., Cottrell, C.E., Cassady, J.M. 1994. Ohioensins and pallidisetins: Novel cytotoxic agents from the moss *Polytrichum pallidisetum*. **J. Nat. Prod.**,57: 32–41.

## **ÖZGEÇMİŞ**

### **KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı Soyadı : Fadime BAŞER  
Doğum Yeri ve Tarihi : Uşak / Eşme- 13.10.1991

### **EĞİTİM DURUMU**

Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### **İLETİŞİM**

E-posta Adresi : Fadimebaser.bylg@gmail.com  
Telefon : 05387135614  
Tarih :