

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

CAMPYLIADELPHUS CHRYSOPHYLLUS (BRID.) KANDA
VE CTENIDIUM MOLLUSCUM (HEDW.) MITT.
KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Gülşah KAHYA

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 07/02/2012

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Başaran DÜLGER

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

GÜLŞAH KAHYA tarafından **DOÇ. DR. BAŞARAN DÜLGER** yönetiminde hazırlanan “*CAMPYLIADELPHUS CHRYSOPHYLLUS (BRID.) KANDA* ve *CTENIDIUM MOLLUSCUM (HEDW.) MITT. KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR*” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Başaran DÜLGER

Danışman

Prof. Dr. Ahmet GÖNÜZ

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Alper ŞENER

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 07.02.2011

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Gülşah KAHYA

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresinde tez danışmanlığımı yürüten, tez konumun belirlenmesinde fikir veren, öğrenimim ve çalışmalarım sırasında bilgi ve önerileriyle yol gösteren Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi değerli hocam Doç. Dr. Başaran DÜLGER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmasında kullanılan karayosunlarını temin eden ve botanik tanımlamasını yapan Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi değerli hocam Doç. Dr. Güray UYAR'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, gösterdiği yakın ilgi ve katkılarından dolayı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Araş. Gör. Dr. Nurcihan HACIOĞLU'na teşekkür ederim.

Öğrenimim ve laboratuvar çalışmalarım sırasında manevi desteklerini hissettiğim, yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Gizem GENÇ'e ve Ebru AYVERDİ'ye teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca olduğu gibi eğitim ve öğretim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, bugünlere gelmemde harcadıkları çaba ve özveriden ötürü babam Hasan KAHYA, annem Gülşen KAHYA ve sevgili kardeşim Ali KAHYA'ya sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Gülşah KAHYA

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATCC	: American Type Culture Collection
cm	: Santimetre
mg	: Miligram
mm	: Milimetre
mL	: Mililitre
μ	: Mikron
μg	: Mikrogram
μL	: Mikrolitre
DSM	: Deutsche Sammlung von Microorganismen, Grisebachstrasse 80 - 3400 Göttingen, German
m	: Metre
C₆H₁₂O₆	: Glikoz
KETO 20	: Ketocanazole
CLT 10	: Clotromizole
G 120	: Gentamicin
CCM	: Czechoslovak Collection of Microorganisms, Brno, Czechovakla
O 30	: Oxytetracycline
NY 100	: Nystatin
E 15	: Erythromycin
C 30	: Chloramphenicol

ÖZET

CAMPYLIADELPHUS CHRYSOPHYLLUS (BRID.) KANDA ve *CTENIDIUM MOLLUSCUM* (HEDW.) MITT. KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Başaran DÜLGER

07/02/2012, 47

Bu çalışmada Zonguldak, Kozlu, Değirmenağzı Mevkiinden toplanan *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda ve *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosunlarının Soxhlet cihazında metanol, kloroform, etil asetat, etanol ile ayrı ayrı ekstraksiyonları yapıldı. Bu çözeltilerden 50 µL alınarak disk difüzyon yöntemi ile *Proteus vulgaris* ATCC 6337, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B – 4877, *Candida albicans* ATCC 10239, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Listeria innocua*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* ve *Cryptococcus neoformans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı.

Bulgulara göre *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosununun *Enterococcus faecalis* bakterisine, *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosununun ekstreleri ise *Enterobacter cloacae* bakterisi üzerine antimikrobiyal aktivite göstermediği görülmüştür. Karayosunu türlerinin diğer tüm mikroorganizmalara karşı farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

Anahtar sözcükler: Antimikrobiyal aktivite, disk difüzyon, karayosunu ekstraktları.

ABSTRACT

INVESTIGATIONS ON ANTIMİKROBİAL ACTİVİTY OF THE MOSSES OF *CAMPYLIADELPHUS CHRYSOPHYLLUS* (BRİD.) KANDA ve *CTENIDIUM* *MOLLUSCUM* (HEDW.) MITT.

Gülşah KAHYA

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Başaran DÜLGER

07/02/2012, 47

In this study, the extractions of the mosses of *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda and *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. which have been collected in Değirmenağzı in Kozlu in Zonguldak, were separately done in the Soxhlet apparatus with methanol, chloroform, ethyl acetate and ethanol. The antimicrobial activities were investigated against the test microorganisms such as *Proteus vulgaris* ATCC 6337, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B – 4877, *Candida albicans* ATCC 10239, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Listeria innocua*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* and *Cryptococcus neoformans* with the disc diffusion method by taking 50 µL from these solutions.

According to findings *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda has not shown antimicrobial effect on *Enterococcus faecalis*. Also, *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt has not showed antimicrobial effect on *Enterobacter cloacae*. The mosses used in this study have antimicrobial effects against the other microorganisms in different levels.

Key words: Antimicrobial activity, disc diffusion, extracts of mosses.

İÇERİK	Sayfa
TEZ SINAVI SONUÇ FORMU	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları	3
2.2. Antimikrobiyal İlaçlar ve Direnç	4
2.3. Antimikrobiyal Duyarlılığın Belirlenmesi	7
2.3.1. Disk Difüzyon Testi	7
2.3.2. Kuyu Difüzyon Tekniği	8
2.3.3. Agar Dilüsyon	8
2.3.4. Broth Dilüsyon	8
2.3.5. E Testi	8
2.3.6. Alamar Testi	9
2.4. Karayosunlarının Genel Özellikleri	9
2.5. Karayosunlarında Sekonder Metabolitler	11
2.6. Karayosunlarının Kullanım Alanları	13
2.6.1. Karayosunlarının Tıbbi Kullanımları	13
2.6.2. Karayosunlarının Bioindikatör olarak Kullanımları	16
2.6.3. Karayosunlarının Yakıt Olarak Kullanımları	16
2.6.4. Karayosunlarının Diğer Kullanımları	17
2.7. Çalışmada Kullanılan Karayosunları	18
2.7.1. <i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) Kanda	18
2.7.2. <i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt.	19

2.8. Karayosunlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Yapılmış Önceki Çalışmalar.....	20
BÖLÜM 3- MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Materyal.....	24
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Karayosunu Türleri.....	24
3.1.2. Test Mikroorganizmaları.....	24
3.1.3. Kullanılan Çözücüler.....	24
3.1.3.1. Etanol	25
3.1.3.2. Etil Asetat.....	25
3.1.3.3. Metanol.....	25
3.1.4.1. Kloroform.....	26
3.2.Yöntem	26
3.2.1. Ekstrelerin Elde Edilişi.....	26
3.2.2. Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması	26
BÖLÜM 4 – ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	28
4.1. Bulgular	28
4.1.1. <i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) H. Kanda Karayosununun Antimikrobiyal Aktivitesi	28
4.2.1. <i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt. Karayosununun Antimikrobiyal Aktivitesi.....	29
4.2. Tartışma.....	38
BÖLÜM 5 – SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	43
Çizelgeler	I
Şekiller.....	II
Özgeçmiş.....	III

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Tarih boyunca insanlar ile enfeksiyon veya hastalığa sebep olan çok sayıda mikroorganizma arasında sürekli bir savaş olmuştur. Veba, tüberküloz, malarya ve son zamanlarda HIV/AIDS pandemisi insan topluluklarında önemli sayıda kişiyi etkileyerek anlamlı ölçüde morbidite ve mortaliteye sebep olmuştur. 20. yy ortalarında antibakteriyel ilaçlarla ilgili gelişmeler ve enfeksiyon kontrolünde yardımcı olan diğer araçların katkısı ile bu savaş insanların lehine dönmüştür. Bakteriyel enfeksiyonlar açısından 1940'ların başlarında penisilin bulunması durumu dramatik olarak düzeltmiştir. Ancak bu iyi durum kısa süreli olmuştur. Antibakteriyel ajanların yaygın kullanılmaya başlanmasından hemen sonra bakteri çeşitli direnç formları ile karşılık vermiştir. Antimikrobiyallerin kullanımı arttıkça bakteriyel patojenler tarafından ortaya konan direnç mekanizmaları daha da artmış ve karmaşık bir hal almıştır (Kuyucu, 2007).

Antibiyotiklerin bilinçsiz kullanımı ile kemoterapotikler ve antimikrobiyal ajanlara karşı patojen organizmaların direnç kazanması nedeniyle antibiyotiklerin aktivitelerinin bu mikroorganizmalara karşı araştırılması ile yeni, etkili antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi zorunlu hale gelmiştir (Balkar ve ark, 2010).

Özellikle 1988'lerden bu yana vankomisin dirençli Enterokokların (VRE) ortaya çıkışı, buna ek olarak bağışıklık sisteminin çökmesine neden olan virus (HIV) gibi yeni patojenlerin ortaya çıkması doğal ürünlerin önemini tüm dünyada artırmaktadır. Bu nedenle yeni biyoaktif doğal ürünlerin araştırılması kimyacılar, mikrobiyologlar ve farmakologların ilgilendiği temel konuların başında gelmektedir (Balkar ve ark., 2010).

Genel tıp giderek bitkilerden elde edilen antimikrobiyaller ve onların türevlerini kabul etmektedir (Cowan, 1999). 20 yy. ikinci yarısından itibaren sentetik ilaçların, zamanla hastalıkların yeni ırklarına karşı etkisiz kaldığı, birçok yan ve toksik etkilerinin olduğu anlaşılmış ve yeniden bitkisel kökenli ilaçlara olan ilgi artmaya başlamıştır (Baydar, 2005).

Bitkisel ilaca ilginin yeniden canlanmasının başlıca nedenleri, modern ilaçların her hastalığı tedavi etme yeteneğine sahip olmamaları, çok pahalı oluşları ve birçok yan etkilerinin bulunmasıdır. Öyle ki bazı sentetik ilaçların yan etkilerini önleyebilmek için diğer bazı ilaçlarla birlikte kullanılma ihtiyacı göstermektedirler. Bunların yanı sıra bitkisel droglardan elde edilen bazı ilaç etken maddelerinin sentetik olanlardan daha ucuza ve kolaylıkla elde edilebilir olması, bitkisel drogların birkaç etkiye birden sahip olmaları

sayılabilir (Çelen, 2006).

Karayosunları eğreltilerle birlikte en yaşlı karasal bitkileri oluşturur (Aysel ve Şenkardeşler, 2002).

Karayosunlarının morlukların tedavisinde, Çin’de göz hastalıklarında, Kuzey Cheyenne yerlileri tarafından yanıklar, kesikler, ısırıklar ve egzama için kullanıldıkları bilinmektedir (Dülger ve ark., 2005). Karayosunlarının Gr (+) ve Gr (-) bakterilere, insan ve bitki patojeni funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (Beike ve ark., 2010).

Arkeolojik kayıtlara göre *Hyolocomium brevirostre* türü sargı olarak, *Homaltheicum sericeum* türü keresteler arasında tampon olarak ve *Hypnum* türleri kesici aletlerin paketlenmesinde kullanılmıştır. Bunun yanında karayosunları toprak kalitesini artırmalarından ötürü seracılık ve saksı çiçekçiliğinde de kullanılmaktadır. Bazı karayosunu türlerinden Tıp ve Eczacılık alanında faydalanılmaktadır. Örneğin *Polytrichum commune* antiseptik madde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Karayosunları sanayinin yoğun olduğu bölgelerde likenler ile birlikte kirlilik için indikatör görevi yapmaktadırlar (Ezer, 2001).

Çeşitli kullanım alanları olan ve tıbbi kullanımları bilinen karayosunlarının ülkemizde antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Bu yüzden ülkemizde doğal olarak yetişen *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda ve *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosunlarının antimikrobiyal etki spektrumları çeşitli fungal ve bakteriyel kültürlerle karşı saptanmaya çalışılmıştır. Ülkemizde ve Dünyada giderek artan kemoterapötik ilaçların, yan etkilerinin arttığı düşünülürse bu tip canlılardan elde edilen antimikrobiyal bileşiklerin önemi giderek artacaktır. Bu çalışma bu tip yeni ilaçların bulunması ve bu organizmaların değerinin bilinmesi açısından bir ön araştırma niteliğindedir.

BÖLÜM 2 ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Briyofit türlerinin geniş menzilli antibiyotikler ürettikleri bilinmektedir. Cerrahi pansumanlarda, pedlerde ve diğer tıbbi uygulamalarda kullanımları bilinmektedir (Glime, 2006).

Antibiyotikler, bazı bakteri ve mantarlarca üretilen ve diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyen (bakteriyostatik) veya onları öldüren (bakterisidal) doğal maddelerdir. Penisilin, sefalosporinler ve makrolidler antibiyotiklere örnektir. Antibiyotiklerle aynı etkiyi gösteren, ancak sentetik olarak sentezlenen kimyasal bileşikler ise kemoterapötik ajanlar olarak adlandırılır. Sülfonamidler, kinolonlar, imidazoller bunlara örnektir. Bazı antibiyotikler veya türevleri kimyasal manüplasyonlarla sentezlenebilir (semi-sentetik antibiyotikler). Bu nedenle, bu terimler arasındaki sınır her zaman net olarak çizilemeyebilir. Antimikrobiyal terimi ise antibiyotik ve kemoterapötik terimlerinin ikisini de kapsar (Saran ve Karahan, 2010)

Antimikrobiyalleri diğer ilaçlardan ayıran önemli özelliklerden biri, etkilerinin verildikleri konağa değil, patojen mikroorganizmalara yönelik olmasıdır (Köksal, 2010). Konağı harabetsizden mikroorganizmaların üremelerinin inhibe edilmesi olarak tanımlanan seçici toksisite, mikroorganizma ile insan hücreleri arasında yapı ve metabolizma farklılıklarının ortaya çıkarılması ile elde edilir. Örneğin penisilinler ve sefalosporinler, peptidoglikan sentezini önlemeleri nedeniyle bakteri üremesini inhibe edip insan hücrelerinin üremesini etkilemediklerinden etkin antibakteriyel ajanlardır (Levinson, 2008).

2.1. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları

Antimikrobiyaller, etki mekanizmalarına göre beş sınıfta toplanırlar (Saran ve Karahan, 2010);

a. Hücre duvarı sentez inhibitörleri

1. Beta laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler, beta-laktam/beta-laktamaz inhibitörü kombinasyonları);
2. Glikopeptitler (vankomisin, teikoplanin);
3. Diğerleri (fosfomisin, sikloserin, basitrasin, ristosetin, ramoplanin, mersasidin, moenomisin)

b. Protein sentez inhibitörleri

1. 50S alt üniteye bağlanarak etkili olanlar (makrolidler, ketolidler, linkozamidler, streptograminler, kloramfenikol, oksazolidinonlar);

2. 30S alt üniteye bağlanarak etkili olanlar (aminoglikozidler, tetrasiklinler, glisilsiklinler);

3. Diğerleri (mupirosin, nitrofurantoin)

c. Nükleik asit sentez inhibitörleri (kinolonlar, rifamisinler, metronidazol)

d. Antimetabolitler (trimetoprim-sülfametoksazol, paraamino salisilik asit)

e. Membran bütünlüğünü bozanlar

1. Peptid antibiyotikler (polipeptit antibiyotikler [basitrasin, gramisidin S, polimiksinler], lineer katyonik peptitler [defensinler, maganinler], ribozomal peptitler [antibiyotikler], diğerleri [pirokorsin, drododoin, apiadesin]);

2. Siklik lipopeptitler (daptomisin).

Geniş spektrumlu antibiyotikler birçok mikroorganizma tipine etkin olup örneğin tetrasiklinler bir çok gram-negatif çomaklara, klamidyalara, mikoplazmalara ve riketsiyalara karşı etkinlik gösterir. Dar spektrumlu antibiyotikler ise sadece bir veya birkaç tipe karşı etkin olup örneğin vankomisin esas olarak bazı gram pozitif koklara, cins olarak stafilokoklara ve enterokoklara karşı kullanılır (Levinson, 2008).

2.2. Antimikrobiyal İlaçlar ve Direnç

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Direnç gelişimi ve yayılımı genellikle gereksiz ve uygunsuz antibiyotik kullanımına bağlanmakla birlikte 1940'lı yıllarda antibiyotiklerin kullanılmadıkları bazı adalarda toprak ve dışkı örneklerinde tetrasiklin ve streptomisine dirençli bakteriler bulunduğu belirtilmektedir; antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu değil, bakterilerin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma sürecinin bir parçası olduğu da belirtilmektedir (Yüce, 2001).

İlaçlara gösterilen bakteriyel dirence aracılık eden 4 ana mekanizma vardır (Levinson, 2008):

- Bakteriler ilacı etkisizleştiren enzimler üretirler; örneğin β - laktamazlar ilacın β - laktam halkasını yararak penisilin ve sefalosporinleri etkisizleştirebilirler.
- Bakteriler ilacın etkili olmadığı değişime uğramış hedef sentezler; örneğin 30 S ribozom altbiriminde mutant bir protein streptomisine, metilenmiş bir 23S rRNA eritromisine dirençle sonlanabilir.

- Bakteriler geçirgenliklerini azaltır ve böylece etkin hücre içi derişimi elde edilmez; örneğin porinlerdeki değişiklik bakteriye giren penisilin miktarını azaltabilir.
- Bakteriler ‘bir çoğul ilaca direnç pompası’ (MDR) kullanarak ilaçları etkin şekilde dışarı atar. MDR pompası protonları içeri alır ve alışveriş tipi bir tepkimede, kinonlar gibi bazı antibiyotikler dahil çeşitli yabancı molekülleri dışarı atar.

Antimikrobiyal ilaçlara direnç mekanizmaları ile ilgili önemli örnekler ve ilaçlar Çizelge 2.1’de gösterilmiştir.

İlaca direncinin büyük kısmı organizmada ya bir kromozomal mutasyon veya bir plazmid veya bir transpozon ile kazanılan kalıtsal bir değişikliğe bağlıdır (Levinson, 2008).

Bakteriler ilaca doğal olarak dirençli olabilir. Bu tür direnç bakterinin temel özelliğidir ve ilaç kullanımı ile ilişkisi yoktur. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan bir yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten ötürü hedefine ulaşamamasının bir sonucudur. Örneğin ilacın dış membrandan dolayı Gram negatif bakteriler vankomisine doğal dirençlidir. Aynı şekilde metabolik olarak inaktif olan bakteri sporları doğal dirençlidir (Yüce, 2001).

Belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etki eden diğer ilaçlara karşıda dirençli olması hali çapraz direnç olarak tanımlanır. Genellikle neomisin - kanamisin gibi yapıları benzer ilaçlarda gözlemlenen bu durum, eritromisin linkomisin gibi ilgisiz ilaçlarda da görülür. Kromozomal ya da ekstrakromozal kaynaklı olabilir (Yüce, 2001).

Çizelge 2.1. Antimikrobiyal ilaçlara direnç mekanizmaları (Levinson, 2008)

Mekanizma	Önemli Örnekler	En Sık Etkilenen İlaç
İlacın etkisizleştirilmesi	β - laktamazla yarıлма	Penisilinler, Sefalosporinler gibi β - laktam ilaçlar
Bakteride ilacın hedefinin değiştirilmesi	Penisilin bağlayan proteinlerde mutasyon	Penisilinler
	30S ribozomal altbirimde proteinde mutasyon	Streptomisin gibi aminoglikozitler
	Peptidoglikanda alanin yerine laktat geçmesi	Vankomisin
	DNA girazda mutasyon	Kinolonlar
	RNA polimerazda mutasyon	Rifampin
	Katalaz-peroksidazda mutasyon	İzoniazid
İlacın geçirgenliğinin değişmesi	Porin proteinlerinde mutasyon	Penisilinler, aminoglikozitler ve diğerleri
İlacın bakteriden dışarı atılması	Çoklu ilaç direnci pompası	Tetrasiklinler, sülfonamidler

2.3. Antimikrobiyal Duyarlılığın Belirlenmesi

In vitro antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesinde; disk difüzyon, E-testi, agar dilüsyon, broth mikrodilüsyon ve broth makrodilüsyon gibi metotlar kullanılmaktadır. Hangi metod kullanılırsa kullanılsın, kullanılan testin Clinical and Laboratory Standarts Institute CLSI 2008a ve 2008b, British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC), the Deutsches Institut für Normung e.V., DIN ve Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CA-SFM'da belirtilen gibi uluslararası kabul görmüş bir prosedüre göre yapılmış olması gerekir (Yıldırım, 2010).

Antimikrobiyal duyarlılığın belirlenmesinde kullanılan yöntemleri temel olarak iki grupta toplayabiliriz; sulandırım (dilüsyon) yöntemleri ve yayılım (difüzyon) yöntemleri.

Sulandırım (Dilüsyon) Yöntemlerinde kural sıvı ya da katı besiyerleri içinde antimikrobiklerin belirli sulandırımalarının yapılarak mikroorganizmalarla karşılaştırılmasıdır. Sonunda antimikrobiğin hangi sulandırmaya kadar mikroorganizma üzerinde etkili olduğu ve buradan gidilerek kemoterapötik MIC (Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu/Baskılayıcı en az yoğunluğu) ile MCC (Minimum Sidal Konsantrasyonu /Öldürücü en az yoğunluğu) ya da MBC (Minimum Bakterisidal Yoğunluğu) saptanır (Bilgehan, 2004).

Yayılım (Difüzyon) Yöntemleri katı besiyerine uygulanırlar. Temel ilke plak besiyerine ekilen mikroorganizmaların, besiyerine yerleştirilmiş olan disklerdeki, cam ya da porselen silindirelerdeki ya da besiyerlerine açılmış çukurlardaki, etraflarına yayılmakta olan antimikrobiyal maddelerle birlikte üremeleri şeklinde özetlenebilir. Antimikroyal maddenin mikroorganizmaya olan etkisinin derecesi oluşan üreme önlenim zonlarının ölçülmesi ile anlaşılır (Bilgehan, 2004).

2.3.1. Disk Difüzyon Testi

Kirby-Bauer tarafından geliştirildiği için Kirby-Bauer testi olarak da anılan bu test kalitatif bir testtir. Bu test ile MIC (Minimum İnhibitory Concentration) belirlenemez (Köksal ve ark., 2006). Belirli yoğunlukta mikroorganizma besiyerine yayılır ve antibiyotik emdirilmiş diskler bunu üzerine yerleştirilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra diskin çevresindeki inhibisyon zonu ölçülerek mikroorganizmanın duyarlılığı ölçülür (Gür, 1999). Antibiyotik NCLS'nin önerdiği sınırlara göre duyarlı, orta derecede duyarlı ve dirençli olarak değerlendirilir (Köksal ve ark., 2006).

Bu yöntem ucuz ve 'esnek' olması nedeniyle tercih sebebidir. Ayrıca diğer bir avantajı ise bu yöntemin en çok denenmiş ve standartize edilmiş duyarlılık testi olmasıdır

(Gür, 1999).

2.3.2. Kuyu Difüzyon Tekniği

Sıvı mikroorganizma süspansiyonu 100 µL olacak şekilde 45 °C'lik su banyosundaki tripton Soya Agar ile önce karıştırılır ve sonra petrilere aktarılarak homojen bir karışım halinde donması sağlanır. Besiyeri donduktan sonra belli aralıklarla 6–7 mm çapında açılan kuyucuklara 50 µL ekstrakt direk olarak aktarılır ya da disklerle (6 mm çapında) emdirilmiş olarak yerleştirilir. Besiyerleri daha sonra 37 °C 24 saat inkübe edilir. İnkübasyon sonrası gözlenen inhibisyon zonu (kuyucuk veya diskin çapı dahil), ekstraktın biyolojik aktivitesinin indikatörü olarak kabul edilmiş ve çapı mm cinsinden ölçülür.

Kuyu difüzyon tekniği; 6–7 mm çapında kuyucukların açılması esasına dayanırken disk–difüzyon tekniği 6 mm çapında disklerin doğrudan petrilere üzerine yerleştirilmesi esasına dayanır (Çakı, 2009).

2.3.3. Agar Dilüsyon Yöntemi

Kantitatif bir yöntemdir (Köksal ve ark., 2006). Bu yöntemde antibiyotik agar içine konur. Her plakta antibiyotiğin farklı konsantrasyonları bulunur. Bakteri agar yüzeyine inoküle edilir (Akalin, 1994). Burada üremenin önlendiği en düşük yoğunluk (MIC) belirlenir (Köksal ve ark., 2006).

2.3.4. Broth Dilüsyon Yöntemi

Kantitatif bir yöntemdir (Köksal ve ark., 2006). Broth dilüsyon testleri, makrodilüsyon (tüp dilüsyon) yöntemleri veya mikrodilüsyon (U ya da V biçimli microplak) yöntemleri ile uygulanabilir. Antibiyotiğin seri sulandırılmaları yapılır. Tüplerde ya da microplaklarda üreme görülmeyen antibiyotik konsantrasyonu MIC değerini verir (Akalin, 1994).

2.3.5. E Testi

E testi agar difüzyon yöntemi ile mikroorganizmaların antimikrobiyal maddelere karşı olan duyarlılıklarını kantitatif olarak ölçen ve MIC değerlerini belirleyen bir yöntemdir. Temeli agarlı besiyeri üzerine yüzeysel ekimi yapılmış mikroorganizma ekiminin üzerine özel hazırlanmış, belirli bir ucundan diğer ucuna doğru giderek azalan yoğunlukta antimikrobiyal madde içeren 5x50 mm boyutlarında ve üzeri MIC değerleri işaretlenerek oluşturulan bölüntüler bulunan inert plastik şeritler konularak uygulanması, sonuçların elips şeklinde oluşan inhibisyon zonlarının bu bölüntülerle kesiştikleri noktadaki sayılara göre okunması temeline dayanır (Bilgehan, 2004).

2.3.6. Alamar Testi

Bakterilerin belirli antimikrobiyal maddelere karşı MIC değerlerinin ölçülmesi için geliştirilmesi için geliştirilmiş bir deneştir. Her çukurunda bir öncekinden bir kat fazla antimikrobiyal madde içeren disklerin bulunduğu çukurlu tablalara, ayrıraçlı besiyerinde süspanse edilmiş bakteri süspanسیونlarının ekilmesi ve inkübasyondan sonra oluşan renk değişikliğine göre sonuçların okunması temeline dayanır (Bilgehan, 2004).

2.4. Karayosunlarının Genel Özellikleri

Karayosunları (Bryophyta), yaklaşık 450 milyon yıldır varlıklarını sürdürmektedirler (Aysel ve Şenkardeşler, 2002). Morfolojik ve anatomik özellikleri bakımından bitkiler aleminin Amphibiaları olarak nitelendirilen karayosunları döllenmelerinde mutlak suya gereksinim duyan, bunun yanı sıra karasal yaşamada uyum sağlamış olan bitkilerdir (Ezer, 2001).

Karayosunları tanımı günümüzde sadece yapraklı karayosunları için kullanılmaktadır. Birbiri ile yakın ilişkili diğer gruplar (ciğerotları ve boynuzlu ciğerotları) önceleri tek bir şube altında toplanmış iken moleküler çalışmalarla 3 grubun ayrı birer şube halinde evrimleştiğini göstermiştir (<http://dogaokulu.net/notlar/karayosunlari.pdf>). Yapılan son moleküler filogeni çalışmalarına kadar, Bryophyta bölümü altında üç sınıfta incelenmekteydi. Günümüzde ise bu üç sınıfın Bryobiotina alt aleminin (subkingdom) altında 3 bölümde (divisio) ele alınmasının daha doğru bir yaklaşım olduğu genel kabul görmektedir. Bu bölümler Marchantiophyta (Ciğerotları, yaklaşık 5.000 tür), Anthocerotophyta (Boynuzsu Ciğerotları, yaklaşık 150 tür) ve Bryophyta (Karayosunları, yaklaşık 13.000 tür)'dir (Hazer, 2010).

İletim demetlerinden yoksun olan ilksel gövdelerinin çevresinde, yeşil, fotosentez yapan yapabilen ve 'Phyllid' olarak adlandırılan yapraksı yapılar yer almıştır. Yapraklı karayosunlarında suyun buharlaşmasını önleyen bir kutikula tabakası ile topraktan suyu alacak bir kök sistemi bulunmaz (Küçüker, 2000). Bunun yerine 'Rizoid' adı verilen tek hücreli ya da çok hücreli olabilen kök benzeri ipliksi yapılarla toprağa, ağaca ve kayaya tutunarak büyürler (Küçüker, 2000; Hazer, 2010). Karayosunları rizoidleriyle sadece buldukları ortama tutundukları için ihtiyaçları olan suyu kendilerini çevreleyen sudan sağlarlar. Yani Poiklohydrous bitkilerdir (Hazer, 2010). Su ve minerallerin alınması ve aksine kaybedilmesi tüm bitki yüzeyinin görevidir (Küçüker, 2000).

Karayosunları, morfolojik olarak ikiye ayrılırlar; akrokarp ve pleurokarp karayosunları. Akrokarp karayosunları substratuma (tutunulan nesne) dik olarak büyürler,

çoğunlukla dallanma görülmez ya da çok az görülür. Ayrıca sporofitleri gametofitlerinin terminalindedir (Çolak, 2010). Küme ya da öbek oluştururlar (Hazer, 2010). Sporofitleri gametofitlerine dik olarak çıkan pleurokarp karayosunları ise substratuma (tutunulan nesne) paralel bir halı örtüsü oluşturur (Çolak, 2010; Hazer, 2010) ve kurutucu etkenlerden uzak alanlarda yayılırlar (Çolak, 2010).

Fototrofitler. Karayosunularının üreme sistemi ya monoik ya da morfolojik diyoiktir; yani erkek ve dişi gametangiyumlar ya aynı ya da farklı bitkiler üzerinde oluşabilir (Aysel ve Şenkardeşler, 2002).

Ciğer otları ve boynuzsu ciğerotları gibi karayosunları gametofit egemen bir yaşam döngüsüne sahiptirler; örneğin yaşam döngülerinin fotosentetik fazı haploid, gametofit nesildir. Sporofit dallanmamıştır, besin için en azından kısmen dişi gametofite bağlıdır. Karayosunlarının gametofitleri küçüktür, genellikle uzun ömürlü bitkilerdir, sipiral düzenlenmiş yapraklar taşıyan, dallanmış ya da dallanmamış sürgünlerden oluşurlar. Doğada tek, izole bireyler olarak bulunmaları oldukça nadirdir. Bunun yerine popülasyon ya da kolonilerde, halı, çim gibi büyüme formlarından oluşurlar. Karayosunları gametofit ve sporofit organizasyonunda geniş morfolojik ve anatomik çeşitlilik gösterir (<http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/001/WebFiles/fna27/FNA27-Chapter1.pdf>).

Yapraklı karayosunlarında eşeyli üreme ovogami ile olur. Toprak üzerinde dağılan sporlardan önce 'protonema' (Yun. Protos=ilk + nema=iplik) denilen küçük, iplikli bir tallus oluşturulur. Protonema gelişerek gametofiti yani yapraklı karayosunu bitkisini verir. Gametofit üzerinde şişe benzeri arkegonadan dişi gamet, topuz veya küre şeklindeki anteridden erkek gamet meydana gelir. Spermatozoid (erkek gamet) suyun ve arkegonadan salınan yön gösterici-çekimleyici nitelikte bir kimyasal maddenin yardımı ile yumurta hücreğine ulaşır ve döllenme gerçekleşir. Diploid bir embryonun gelişmesine ardışık, uzun veya kısa saplı, yuvarlak bir kapsülü taşıyan karayosununa ait sporofit meydana gelir. Spor kapsülünde mayoz bölünme ile haploid sporlar oluşur, belli bir süre sonra spor kapsülünün kapak kısmı dişlerle açılarak sporlar dışarıya atılır (Küçüker, 2000).

Karayosunların çoğu son derece soğuk ve sıcağa da dayanıklıdır. Bazı yapraklı karayosunları, kuru hava şartlarında önemli miktarda su kaybeder ve su bulduğu zaman tekrar canlanır. Bazıları da, alpin ve arktik bölgelerde toprak ve kayalar üzerinde gelişir. Orman yangınlarından sonra serinleyen kayalar ve toprak üzerinde ayrıca yanardağlardan sonra soğumuş lav yataklarında likenlerden sonra erken işgalciler olup, ortamda koloniler oluşturarak toprağın kalitesini ve nemini yükselterek, diğer tohumların ortamda

çimlenmesi için uygun zeminin oluşmasını sağlarlar (Hazer, 2010).

Karayosunlarının en önemli özellikleri çok fazla miktarda su depo etmeleri ve bu şekilde biyotoplarında su ekonomilerini ayarlamalarıdır. Bunun yanında, evrimleri süresince gölge toleransı (normal gün ışığının % 0,2 ‘i), sıcaklık toleransı (Antarktikler, dağların zirveleri), güneş alan bölgelerin istilası (toprak sıcaklığı 70 °C), asit toleransı (türe göre pH 3–8) ve epifit yaşam gibi özellikler kazanmışlardır. Bunun sonucunda farklı çevre koşullarına uyum sağlamışlardır. Bazı karayosunu türleri sahip oldukları özelleşmiş fizyolojik yeteneklerinden dolayı zaman zaman aşırı kurak olan bölgelerde yaşayabilirler. Vakuol içermeyen hücreler büzüştükleri halde, protoplazmalarındaki organeller zarar görmeden canlılığını sürdürür. Su kaybıyla azalan metabolik aktiviteleri, nemli ortamda tekrar en üst düzeye çıkar. Bu fizyolojik yeteneklerinin yanı sıra, kurumayı geciktiren morfolojik özellikleri de vardır. Bunlara ışığı yansıtan tüyler (örneğin *Tortula* sp., *Grimmia* sp.), su depo eden ölü hücreler (örneğin *Leucobryum* sp.) , kıvrılan filloidler (örneğin *Polytrichum* sp.) ve sık dizile kauloydlerin oluşturduğu yastıkçıklardır (Aysel ve Şenkardeşler, 2002).

Bryophytalar yaşamın çeşitli alanlarında insanlar ve diğer canlılar ve birtakım doğal olaylar (erezyon v.s.) açısından önemli olup, birçok kullanım alanına sahiptir. Morfolojik ve anatomik özellikleri nedeni ile Bryophyta’lar ekosistemin ayrılmaz bir parçasıdır. Erozyon önleyici ve azaltıcı olmaları, yüksek su tutma kapasitesine sahip olmaları (kendi kuru ağırlıklarınının 12 katı kadar), üzerlerine düşen tohumunların çimlenmesinde uygun ortam oluşturmaları, süksesyonda toprak oluşumuna katkıda bulunmaları, yumuşak ve elastiki yapılarından ötürü toprak kalitesini artırmaları ve orman tabanında ortam neminin stabilizesini sağlamaları, bu bitkilerin ekosistem açısından önemli olduğunu göstermektedir (Ezer, 2001). Ayrıca mineral depo etmeleri, hayvanlar için besin kaynağı olmaları, birçok böcek türü için barınak ve yumurtlama ortamı oluşturmaları açısından da önemlidirler (Hazer, 2010).

2.5. Karayosunlarında Sekonder Metabolitler

Bitkilerin çoğu fenol ya da onların oksijen yerine türevlenen aromatik bileşikleri sentezleme yeteneğine sahiptirler. Bunların çoğunluğu sekonder metabolitlerdir. En az 12.000’i izole edilmiştir ve bu sayı tahminen totalin ancak % 10’undan daha azdır (Cowan, 1999).

Briyofitler geniş çapta sekonder metabolitlere sahiptir ve bu nedenle biyoteknolojik ve biyofarmasötik uygulamalar için önemli bir potansiyele sahiptir. Son on yılda

briyofitlerden 400'den fazla kimyasal izole edilmiş ve kimyasal yapıları aydınlatılmıştır (Beike ve ark., 2010) .

Briyofitlerde bulunan sekonder metabolitlerin birçoğunun biyolojik olarak aktif maddeler olduğu bilinmektedir. Ekolojik ve evrimsel açıdan bakıldığında biyolojik olarak aktif bu bileşikler büyük olasılıkla bir patojen defans mekanizması ve mikroorganizmalara karşı bir korumadır. Trakeofitlerle karşılaştırıldığında kabuk ya da kutikula gibi mekanik bir korumaya sahip değildir. Ayrıca briyofitler, orman zemininde çeşitli biyolojik yok olma tehlikeleri ile karşı karşıyadırlar. Bu nedenle, bu habitatlarda hayatta kalmak için, funguslar ya da bakteriler gibi patojenlere karşı bir koruma zorunludur (Beike ve ark., 2010).

Karayosunları genel olarak mikroorganizmalar, böcekler, salyangozlar ve küçük memelilerden zarar görmezler (Asawaka, 2007). Birçok otör briyofitlerin doğal pestisidler içerebileceğini öne sürmektedir (Saxena ve Harrinder, 2004).

Richardson (1981)'a göre karayosunlarının antibiotik üretmeleri nedeniyle, çürümelerinde bakterilerin önemli bir yere sahip olmadığı bilinmektedir (Elibol, 2010).

Briyofitlerin oligosakkaritler, polisakkaritler, şeker alkolleri, aminoasitler, yağ asitleri, alifatik bileşikler, fenilkinonlar, aromatik ve fenolik maddeleri içine alan birçok yararlı bileşik içerdiği bilinmektedir (Glime, 2006).

Bryum spp. flavonoidler, flavanoller, biflavonlar, auronlar, isoflavonlar, 3-deoxyantocyaninler ve karatenoidler içerdiği bilinmektedir. *Bryum argenteum* ise biflavonları flavon glikozid, flavon diglikozid içermektedir (Sabovljevic ve ark., 2006).

Hypnum cupressiforme karayosunundan polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAHs) , *M. undulatum* karayosunundan hypnogenoller, biflavonoidler ve dihidroflavanoller, Flavonoid, C-glycosides ve diğer flavonoidler izole edilmiştir (Dülger ve ark. , 2005).

Atrichum, *Polytrichum* , *Mnium* ve *Sphagnum* türlerinin antibiyotik olarak aktif bileşenlerinin polifenolik bileşikler olduğu düşünülmektedir (Basile ve ark., 1998).

Ando ve Matsuo (1984)'e göre biyoaktif bileşikler, bazı durumlarda dermatit ve alerjik etkilere neden olabilmesine rağmen briyofit ekstraktlarının insan patojenik funguslarına karşı etki gösterdiği rapor edilmiştir (Beike ve ark., 2010).

2.6 Karayosunlarının Kullanım Alanları

2.6.1 Karayosunlarının Tıbbi Kullanımları

Briyofitler Çin, Hindistan ve Yerli Amerikanların bitki tıbbında yer almaktadırlar. Yerli Amerikalıların Briyofitleri, ilaç, lif ve giysi için kullandıkları bilinmektedir. *Riccia* spp. Himalayalarda saçkıranı tedavi etmek için kullanılmaktadır. Çin’de, yerel eczacıların raflarında 30- 40 briyofit türü bulunabilmektedir. Bunların arasında yaygın olan *Rhodobryum giganteum* ve *R. roseum* halsizlik ve kardiyovasküler rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılırlar (Glime, 2006).

Çin Yunnan eyaletinde, *Sphagnum* türleri özellikle bir çay gibi demlenerek bir kalp toniği olarak kullanılmaktadır. Önceleri kurutulmuş ve paketlenerek Kanadaya ihraç edilmekteydi (Glime, 2006).

Çin’de *Polytrichum commune* iltihap ve ateşlerde kullanılmıştır. Ayrıca bir temizleyici diüretik, laksatif ve hemostatik olarak kullanılmışlardır (Glime, 2006). *P. commune* karayosununun taze halde toplanmış tallusu çay şeklinde diüretik ve ayrıca tonik ve diyoforetik etkisi olduğu bilinmektedir (Küçüker, 2000).

Yine Çin’de *Sphagnum* hemorajları tedavi etmek için satılırken, *S. teres* göz hastalıklarında kullanılır. *Haplocladium microphyllum* sistit, bronşit, tonsilit ve timpanitis hastalıklarının tedavisi amacıyla satılmaktadır (Glime, 2006).

Himalaya yerlileri karayosunu küllerini bal ve yağ ile karıştırarak kesikleri, yanıkları ve yaraları iyileştirmek için kullanılır. Hatta iddia edilene göre bu küller yaraları çok daha çabuk iyileştirmektedir. Alaska yerlileri de benzer şekilde *Sphagnum* karayosununu yağ ile karıştırarak bir çeşit merhem elde etmektedirler (Glime, 2006).

Çin’de ve Bolivya’ da *Fissidens* boğaz şişliklerinde ve diğer bakteriyel enfeksiyon semptomlarında bir antibakteriyel ajan olarak kullanılır (Glime, 2006).

Briyofitler yaralar için hem iyileştirme amaçlı hem de tampon olarak kullanılmıştır. Utah’ta yerli insanlar *Bryum*, *Mnium* ve *Philonotis* gibi türleri kırık kemiklerde, kırık-çıkık tahtası (atel) altına bir dolgu maddesi olarak kullanılmaktadırlar (Glime, 2006).

Sphagnum türleri kuru ağırlıklarının 15–20 katı kadar sıvı emebildiği deneylerle saptanmıştır. *Sphagnum* türleri, eski Avrupa tıbbında, özellikle birinci dünya savaşı sırasında sargı bezi ve tampon yapımında kullanılmışlardır (Küçüker, 2000). *Sphagnum* özellikle bandaj olarak kullanımı ile ün kazanmıştır. I. Dünya savaşıdan önce Rus-Japon savaşında (1904–1905) yaraları sarmak için kullanılmıştır (Glime,2006). *Sphagnum*, I. Dünya Savaşı esnasında Almanlar tarafından yaraları pansumanlamak için kullanılmıştır

(Saxena ve Harrinder, 2004). Tabii bandaj yapımı için kullanılan tek karayosunu *Sphagnum* değildir. Vancouver'ın yerli insanları baldırıkara karayosunu olarak bilinen (*Fissidens adianthoides*) karayosununu yaraları bandajlamak için kullanmaktadırlar (Glime, 2006).

Bazı *Sphagnum* türlerinde 'Sphagnol' adlı antibakteriyel bir madde elde edilmiştir (Küçükler, 2000; Saxena ve Harrinder, 2004). Sphagnol, egzema, hemoroid, sivilce, uyuz için yararlıdır ve böcek ısırıklarını yatıştırmak için yararlıdır (Saxena ve Harrinder, 2004). Yerli Amerikalı Nitinahtlar *Sphagnum* karayosununu bir dezenfektan olarak kullanmışlardır (Glime, 2006).

Bazı tıbbi kullanımı olan briyofit türleri ve tıbbi kullanım amaçları Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Tıbbi briyofitler ve kullanımları (Asawaka, 2007)

Bryum argenteum	Antidotol, antipiretik
Cratoneuron filicinum	Malum cordis (kalp hastalığı) için
Ditrichum pallidum	Konvülsiyonlar için, özellikle bebeklerde
Fissidens japonicum	Diüretik aktivite, saç uzatmak için, yanıklar ve sarılık
Funaria hygrometrica	hemostasis, akciğer tüberküloz, atlet ayağı dermofitozis (dermomikozis, dermatomikozis) hematemez, yara-bere için.
Haplocladium catillatum	Antidotol ve antipiretik aktivite farenjit, üropati, timpanit erisipel, ürosistit
Leptodictyum riparium	Antipiretik. Sarılık ve hemostaz
Mnium cuspidatum	Burun kanaması ve hemostaz
Oreas martiana	Ağrı kesici, hemostaz, eksternal yaralar, epilepsi Menoraji, sinir yorgunluğu
Philonotis fontana	Antipiretik ve antidotal aktivite
Plagiopus oederi	Sedatif olarak, epilepsi, apopleksi, and kardiopati
Polytrichum species	Diuretik aktivite
Polytrichum commune	Antipiretik and antidotal; hemostaz, kesikler ,diş eti kanaması Gingivit , hematemez, and akciğer tüberküloz
Rhodobryum giganteum	Antipiretik , diüretik ve antihipertensif, kesikler, kardiopati ve kalp kan damarlarının genişlemesi
Rhodobryum roseum	Sedatif olarak , nevrasteni ve kardiopati
Taxiphyllum taxirameum	Hemostaz ve eksternal yaralar
Weissia viridula	Antipiretik ve antidotal; rinit

2.6.2. Karayosunlarının Bioindikatör Olarak Kullanımları

Ciğerotları ve karayosunlarının çevre koşullarının iyi birer indikatörü olduğu bulunmuştur. Aquatik karayosunlarının varlığı sularda besin ve kalsiyumun bir indikatör olarak kullanılabilir. Bazı briyofitler yalnızca özel bir pH aralığında gelişir. Bu nedenle toprak pH'nın bir indikatörü olarak kullanılabilir. Bir çok karayosunu, özellikle *Hypnum imponens*, konifer ağaç türleri için mükemmel bir tohum yatağı sağlar. Bu briyofitlerin nemlendirme sağlamada briyofitlerin rolü nedeniyledir. Briyofitler orman örtüsünün korunmasında ve oluşumunda önemli bir rol oynamaktadırlar (Saxena ve Harrinder, 2004).

Karayosunları yağmurdan kolayca K, Mg ve Ca biriktirir. Briyofitler ayrıca demir cevheri depolanmasında önemli bir rol oynarlar. Bakırca zengin topraklarda yetiştikleri için *Merceya*, *Mielichhoferia elongata* ve *M. mielichhoferia* karayosunları 'bakır karayosunları' olarak bilinirler. Bu türler indikatör bitkiler olarak kullanılabilirler (Saxena ve Harrinder, 2004).

Birkaç çalışmada, karayosunlarının yüksek konsantrasyonlarda Pb, Zn ve Ni gibi ağır metalleri biriktirdiği belirlenmiştir (Saxena ve Harrinder, 2004). Karayosunları ekstrem çevre koşullarında çoğalabildikleri, yüksek yüzey: hacim oranları, basit anatomileri ve mumsu bir kutikuladan yoksun olma özelliklerinden dolayı ağır metalleri dokularında toplayarak biriktirirler. Karayosunları yaklaşık 20 yıldan fazla süredir şehirlerdeki ağır metal ve radyonüklidlerin atmosferik depolanmasını değerlendirmek için geniş ölçüde kullanılmaktadır. Karayosunları birçok çalışmada, doğal olarak geliştikleri ortamlarda veya transplantlar halinde biyomonitor organizmalar olarak kullanılmışlardır (Yücel, 2010).

Bryum argenteum Antartikanın üzerinde ozon tabakasının kalınlığını görüntülemek için kullanılabilir. Ozon tabakası incelendiğinde, UV-B radyasyonuna maruz kalmanın artması bu türlerde flavonoid üretimini stimüle etmektedir (Glime, 2006).

2.6.3. Karayosunlarının Yakıt Olarak Kullanımı

Ciğerotları ve karayosunları uzun zamandır Finlandiya, İsveç, İrlanda, Polonya gibi ülkelerde yakıt olarak kullanılmaktadır (Saxena ve Harrinder, 2004).

Sphagnum türleri toprak içerisinde kalınlığı 10 metreyi bulan ve turbalık olarak adlandırılan bazı oluşumların esas yapısını oluştururlar (Küçüker, 2000). *Sphagnum* turbaları; süngerimsi, lifli yapılı, yüksek gözeneklilik, yüksek su tutma ve hava kapasitesi, düşük kül muhtevası, düşük pH özelliklerine haiz olmasına karşın, kamyş ve odunsu

bitkilerden oluşan turbalar bu özellikler bakımından daha yetersizdir (<http://www.doa.gov.tr/doadergisi/doa4/d9.pdf>). *Sphagnum* odundan daha yüksek ısıtma sağlamaktadır. Hasatı kolaydır ve düşük sülfür içerir, günümüzde kullanımı sınırlandırılmıştır (<http://dogaokulu.net/notlar/karayosunlari.pdf>). Sadece *Sphagnum* türlerini içeren turbalar, bitki yetiştirme ortamı olarak en uygun turbalardır (<http://www.doa.gov.tr/doadergisi/doa4/d9.pdf>).

Turba karayosunları metan gazı üretimi için uygundur ve turba gelecekte ısı, metan ya da elektrik üretimi için önemli bir kaynaktır (Saxena ve Harrinder, 2004).

2.6.4 Karayosunlarının Diğer Kullanımları

Karayosunları Japonya, İngiltere, Fransa, Finlandiya ve Amerikada dekoratif amaçlı kullanılmaktadırlar.

Sphagnum kesme ve saksı çiçekliğinde, sürekli nemli kalması gereken bitkilerin etrafına sarılarak ya da saksı içersine yerleştirilerek kullanılmaktadır (Küçüker, 2000).

Günümüzde *Sphagnum* katkısıyla elde edilmiş peatcrete veya peatwood adıyla anılan düşük maliyetli, kolay şekil verilen bir ürün batı ülkelerindeki marketlerde satılmaktadır (<http://dogaokulu.net/notlar/karayosunlari.pdf>). Himalayalar, Kapkotta köylüleri kulübe benzeri evlerini karayosunlarını çalılar, çim ve bambu ile pharki denen bi tür kaplama yapmak için kullanırlar (Saxena ve Harrinder, 2004).

Almanya’da, *Sphagnum* yünle karıştırılarak ucuz giysilerin hazırlanmasında kullanılmıştır (Saxena ve Harinder 2004). Bazı kültürlerde *Sphagnum* ve *Dicranum scoparium* astar bezi olarak kullanılmıştır (<http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/001/WebFiles/fna27/FNA27-Chapter2.pdf>).

Hindistan’da *Sphagnum*, *Hypnum cupressiforme*, *Macrothamnium submacrocarpum*, *Neckera crenulata*, *Trachypodopsis crispatula* ve *Thuidium tamariscellum* batı himalayalarda erik ve elmaların paketlenmesinde kullanılırlar (Saxena ve Harinder, 2004). Geçmişte yumuşaksı elastik dokuları nedeniyle yataklarda, paketlemelerde kullanılmışlardır, ayrıca böcek ve mikroorganizma ataklarından kolayca etkilenmezler (Saxena ve Harrinder, 2004).

Karayosunlarının bir kullanım alanı da atık suların arıtılmasıdır. Kanada, Amerika ve Avrupa’da biyofitreler yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu amaçla kullanılan biyofiltrelerden biri olan Ecoflo® biyofiltresinin yapısı ince fiberglass korumalar ve işlenmiş karayosunundan oluşmaktadır. Bu biyofiltre, günde 1.000 litreye kadar atık suyu süzebilmektedir (Altuner, 2008).

2.7 Çalışmada Kullanılan Karayosunları

2.7.1. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda



Şekil 2.1. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda (altın yapraklı kıvrık yosun) (http://wisplants.uwsp.edu/bryophytes/photos/CAMCHR_ML.jpg)

Bu karayosunu gevşek ya da yoğun düzensiz dallanır, yeşil ya da altın yeşili bölümlerden oluşur. Dal yaprakları 1.5 mm uzunluğa kadar ulaşır ve yaprakları kıvrık ya da çok kıvrılmıştır. Sürgün ucu, yayılan yaprakları ile, karayosununun karakteristik özelliği olan yıldız biçiminde bir görünüme sahiptir (Şekil 2.1.).

Kireç taşı ve kalkerli yerlerde, kaya çukurluklarında, kaya ve taşların kenarında bulunurlar. Sürekli olarak gölgeli alanlarda bulunmaları nadirdir (http://www.bbsfieldguide.org.uk/sites/default/files/pdfs/mosses/Campyliadelphus_chrysophyllus.pdf).

2.7.2. *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt.

Şekil 2.2. *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. (<http://www.biopix.dk/photos/jcs-ctenidium-molluscum-51651.jpg>)

Bu çok değişken karayosunu sıkı dallanmış, gevşek sarımsı yeşil bölümlerden oluşur. En yaygın varyetesi *Ctenidium molluscum* var. *molluscum* 'dur. Tipik olarak sürgünleri 2-3 cm uzunluğundadır, fakat *Ctenidium molluscum* var. *condensatum* ve *Ctenidium molluscum* var. *robustum* daha büyük olabilmektedir. Yaprakları 1-2 mm uzunluğundadır (fakat dallarda daha küçük), geniş üçgen şekilde ve aynı yönde kıvrılmıştır. Dalların ucu çoğunlukla bükülür ve dalın geri kalanından daha parlak görülür (Şekil 2.2.).

Bu yaygın ve bilinen karayosunu güçlü kıvrımlı yaprakları ile diğer pleurokarplar ile karıştırılmamalıdır.

Bu türün varyeteleri kayalıklar, ağaçlıklar, kıyılar ve çayırlar gibi bir çok kalkerli habitatta bulunabilir. Toprak ve kayalıklarda yetişmeleri indikatör özelliklerinden olabilir ve onların varlığı briyolojistleri uyarır. Örneğin *Ctenidium molluscum* var. *sylvaticum* Güney İngiltere ormanlarında asidik topraklarda ve humusta oldukça sık bulunur (<http://www.bbsfieldguide.org.uk/content/ctenidium-molluscum>).

2.8. Karayosunlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar

Palustriella commutata (Hedw.) Ochyra aseton ve metanol çözücüleri ile elde edilen özütlerinin antimikrobiyal aktivitesi onbir bakteri, bir maya ve sekiz küfe karşı disk difüzyon metodu ile çalışan İlhan ve ark.(2006) denenen Gram-pozitif bakterilerden bazıları (*Bacillus mycoides*, *B. cereus*, *B. subtilis* ve *Micrococcus luteus*) aseton ekstraktına duyarlı iken, Gram-negatif bakterilerin (*Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Enterobacter aerogenes*) hepsi duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Ekstraktların maya ve küfler üzerinde bir etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre aseton ekstraktının potansiyel antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Singh ve arkadaşları (2007), 15 karayosununun etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini 11 bakteriye ve antimikotik aktivitesini 8 fungusa karşı denemişlerdir. Tüm mikroorganizmalara karşı en aktif türlerin *Sphagnum junghuhnianum*, *Barbula javanica*, *Barbula arcuata*, *Brachythecium populeum*, *Brachythecium rutabulum*, *Mnium marginatum* ve *Entodon cf rubicundus* türlerinin tüm mikroorganizmalara karşı en aktif olduğunu tespit etmişlerdir.

Pejin ve ark. (2011), *Rhodobryum ontariens* dimetil sülfoksit ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini mikrodilüsyon metodu ile incelemişlerdir. Ekstraktın, farklı derecelerde, test edilen bakteri ve funguslara karşı aktivitesi olduğunu gözlemlemişlerdir.

Liasu ve Ayandele (2008), *Tithonia diversifolia* (Compositae) ve *Bryum coronatum* (Bryophyta) türlerinin sulu ve etanolik ekstraktlarının aktivitelerini çalışmışlardır. Bitki ekstraktlarının MIC değerlerinin 0.01 mg/mL ile 100 mg/mL arasında aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Her iki ekstraktın, birkaç istisna dışında test edilen test edilen organizmalara karşı dikkate değer aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Basile ve ark. (1998), *Pleurochaete squarrosa* türünün aseton ekstraktını bazıları insanlara patojen olan 11 bakteri strainine karşı antibakteriyel aktivitesini çalışmışlardır. Ekstraktın bazı Gr (-) bakteri strainlerine karşı aktif olduğu gözlemlenmiştir. *Bacillus subtilis* dışında Gr (+) bakterilerin ekstrakta karşı yüksek duyarlılığının olmadığını gözlemlemişlerdir. *Enterobacter faecalis* ekstrakta dirençli olduğu, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerinin sadece yüksek konsantrasyonlarda inhibe olduğu görülmüştür. Gr (-) bakterilerin ekstrakta daha duyarlı olduğu görülmüştür. Özellikle *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae* ve *Bacillus subtilis*

bakterilerinin ekstrakta en yüksek duyarlılığı gösterdiği gözlemlenmiştir. *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris* ve *Pseudomonas aureginosa* bakterilerinin duyarlı olmadığı görülmüştür.

Dülger ve ark. (2005), Türkiyenin farklı lokalitelerinden toplanan (*Grimmia pulvinata* (Hedw.) Sm., *Tortula subulata* Hedw., *Grimmia pulvinata* Hedw., *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schaegr., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Homalothecium sericium* (Hedw.) Br.Eur., *Neckera complanata* (Hedw.) Hub. ve *Mnium undulatum* türlerinin metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon metodu ile çalışmışlardır. Sonuç olarak ekstraktların başlıca Gr (+) ve Gr (-) bakterilere karşı orta düzeyde aktif olduğu, mayalara karşı düşük bir aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Sabovljevic ve ark. (2006), *Bryum argenteum* türünün etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini mikrodilüsyon metodu ile çalışmışlardır. Araştırılan tüm etanol ekstraktları test edilen tüm bakteri ve funguslara karşı aktif olduğu ortaya çıkmıştır.

Çolak (2010), *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dixon, *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Homalothecium sericeum* (Hedw.) Br.Eur., ve *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook&Taylor türlerinin antimikrobiyal aktivitesi üzerine çalışmalar yapmıştır. Etil alkol, metil alkol, kloroform ve aseton olmak üzere dört farklı çözücü kullanılarak elde edilen özütlerin disk difüzyon metodu antimikrobiyal aktiviteleri çalışılmış ve daha sonra MIK çalışılmıştır. Elde edilen özütlerin en az birinin her bir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkisi tespit edilmiştir. Özütlerin mikroorganizmalara karşı olan antimikrobiyal aktivitesinin konsantrasyonla orantılı olduğunu belirtmiştir.

Elibol (2010), 6 akrokarp karayosununun etil alkol, metil alkol, kloroform ve aseton ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. *Grimmia anodon* Bruch. & Schimp., etki ettiği mikroorganizma sayısı açısından en yüksek etkiyi gösterdiği *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. ise sadece *Candida albicans* ATCC 16231 suşu üzerine etki gösterdiği gözlemlenmiştir.

Altuner (2008), 20 farklı karayosununun farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarını 10 farklı mikroorganizma üzerine antimikrobiyal aktivitesini çalışmıştır. Genel olarak, sdH₂O ve tampon ekstraktları ile en yüksek, buna karşılık dietil eter ve etil alkol ekstraktları ise en düşük seviyede antimikrobiyal etki gösterdiğini saptamıştır. Ayrıca, iki ayrı lokasyondan toplanan 3 karayosunu örneği kullanılarak, lokasyonun antimikrobiyal aktivite üzerine olası etkisi araştırılmış ve lokasyon parametresinin, özellikle de karayosunlarının yaşadığı fiziksel çevrenin antimikrobiyal aktivite açısından etkili olduğu belirlenmiştir. Seçilen

karayosunlarından hiçbirinin *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 üzerine antimikrobiyal aktivite göstermediği gözlenmiştir. *Calliergonella cuspidata* (Hedw.) Loeske, *Pterigynandrum filiforme* Hedw., *Plagiothecium denticulatum* (Hedw.) Br. Eur. var. *denticulatum* ve *Pohlia cruda* (Hedw.) Lindb. ise test edilen hiçbir mikroorganizmaya etki göstermemiştir.

Montenegro ve ark. (2009), Şili yerli karayosunu olarak bilinen *Sphagnum magellanicum* ekstraktının *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *Vibrio cholerae*, *E. coli*, *Salmonella typhi* ve *Streptococcus* type β kültürlerinin gelişmesini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Etanol ekstraktında vanilik, siringik, kafeik, gallik, 2-4 hidrobenzoik, p-kumarik ve salisilik asit varlığını belirlemişlerdir.

Bodade ve ark. (2008), Ciğer otları ve karayosunları ile yaptıkları çalışmalarında *Racomitrium crispulum* dışındaki briyofitlerin (*Plagiochasma appendiculatum*, *Thuidium delicatulum*, *T. cymbifolium*, *Bryum cellulare* ve *B. argentium*) en az bir mikroorganizmaya karşı aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Etanol, aseton ve kloroform ekstraktlarının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde daha etkili olduğu bulunmuştur.

Savaroğlu ve ark. (2011), *Funaria hygrometrica* Hedw. (Funariaceae), *Hypnum cupressiforme* Hedw. (Hypnaceae), *H. imponens* Hedw. (Hypnaceae), *Polytrichum juniperinum* Hedw. (Polytrichaceae) ve *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. (Pottiaceae) karayosunlarının agar difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. *Polytrichum juniperinum* Hedw. ve *Tortella tortuosa* (Hedw.) Limpr. türlerinin test edilen bakteri ve fungus türlerine karşı en iyi inhibitör etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Doğada ve aksenik yetişen *Atrichum undulatum*, *Physcomitrella patens* ve *Marchantia polymorpha* briyofitlerinin ekstraktlarının bioaktivitelerini karşılaştıran Sabovljevic ve ark. (2010), genel olarak doğada yetişen materyalden elde edilen ekstraktların, laboratuvar koşullarında yetişen materyal ekstraktlarından daha belirgin bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Başka bir çalışmada Sabovljevic ve ark., (2011), doğal ve aksenik olarak yetişen yetişen *Atrichum undulatum*, *Physcomitrella patens* ve *Marchantia polymorpha* briyofitlerinin dimetil sülfoksit ekstraktlarının antifungal aktivitelerini çalışmışlardır. Genel olarak laboratuvarında yetişen materyalden elde edilen ekstraktların, doğada yetişen materyalden daha iyi antifungal aktivite gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Bazı funguslar her iki ekstrakta da benzer sonuç vermiştir.

Russel (2010), 14 briyofitin etanol ve metanol ekstraktlarını üç bakteri streynine karşı antibiotik aktivitesini disk difüzyon metoduyla çalışmıştır. Karayosunlarının % 33'ünün ve ciğerotlarının % 88 'inin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptamıştır.

Veljic ve ark. (2009), *Fontinalis antypretica*, *Hypnum cupressiforme* ve *Ctenidium molluscum* metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. Çalışılan bu karayosunu türlerinin antifungal aktivitesinin, antibakteriyel aktivitesinden yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Antibakteriyel etkinin ise Gr (-) bakterilere karşı Gr (+) bakterilerden fazla olduğunu tespit etmişlerdir. *Fontinalis antypretica* metanol ekstraktı orta düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterirken, *Ctenidium molluscum* ekstraktının düşük aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Dülger ve ark. (2009), 5 briyofit türünün etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini çalışmışlardır. *Plasteurhynchium meridionale* ve *Anomodon viticulosus* tüm mikroorganizmalara karşı aktiviteye sahip olduğunu gözlemlemişlerdir.

Karayosunlarından 7 saf flavonal (apigenin, apigenin- 7-O-triglycoside, lucenin-2, luteolin-7-O-neohesperidoside, saponarine ve vitexin ve bifavonoid bartramiaflavone.) izole eden Basile ve ark. (1999), bazılarının *Enterobacter cloaceae*, *E. aerogenes* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı antibakteriyel etkili olduğunu bulmuşlardır. Antimikrobiyal spektrumlarının temel olarak, fırsatçı enfeksiyonlara ve genel antibakteriyel terapiye dirençli Gr (+) bakteri strainlerine karşı olduğunu saptamışlardır.

Karayosunlarının esansiyal yağlarıyla çalışan Üçüncü ve ark. (2010), *Tortula muralis* karayosununun nonanal ve tetradecanol, *Homalothecium lutescens* karayosununun nonanal ve trikojen, *Hypnum cupressiforme* ve *Pohlia nutans* karayosunlarının nonanal ve 2E-tetradecen-1-ol içerdiğini GC-FID/MS tekniği ile belirlemişlerdir. İncelenen karayosunlarındaki terpenoidlerin sayısı ve değerleri genel olarak nonterpenoidlerden daha az olduğunu tespit edilmiştir. Bu karayosunlarının esansiyal yağ örneklerinin *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* mayalarına karşı antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Karayosunu Türleri

Çalışma materyali olarak kullanılan *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. Zonguldak, Kozlu, Değirmenağzı Mevkii, *Fagus orientalis*, *Carpinus betulus*, *Ostrya carpinifolia*, *Laurus nobilis*, *Rhododendron ponticum*, *Quercus* sp., formasyonu altı, kaya ve toprak üzerinden 10.01.2009 tarihinde, *Campyliadelphus chrysophyllus* karayosunu ise aynı mevkii fakat bu sefer orman içi değil orman kenarından toprak üzerinden toplanmıştır.

Karayosunu örnekleri Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Güray Uyar tarafından teşhis edilmiştir.

3.1.2. Test Mikroorganizmaları

Ctenidium molluscum (Hedw.) Mitt. ve *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin tespiti için 19 bakteri ve 4 maya kültürü kullanılmıştır.

Proteus vulgaris ATCC 6337, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B – 4877, *Candida albicans* ATCC 10239, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Bacillus cereus* ATCC 7064 mikroorganizma strainleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Citrobacter freundii, *Serratia marcescens*, *Listeria innocua*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Cryptococcus neoformans* izolatları ise Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı ve Trakya Üniversitesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından sağlanmıştır.

3.1.3 Kullanılan Çözücüler

3.1.3.1. Etanol: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ formülüne sahip olan bir organik bileşiktir. Etanol glikozun mayalanmasından oluşur (Uyar, 1992).

Fermantasyon genellikle, şeker içeren sulu çözeltiye maya ilavesiyle yapılır. Mayanın içerdiği enzimler, uzun bir tepkime dizisi sonunda basit şekeri ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) etanol ve karbondioksite dönüştürür. Besin ve ezacılıktaki kullanımlarının yanısıra etanolden çözücü, motor yakıtı, kloral, kloroform, etil esterler ile olağan eterin elde edilmesinde ara madde, besin sanayisinde kullanılan asetik asit ya da sirke yapımında ise ana madde olarak kullanılır. Tıpta kullanılan araçların sterilize edilmesinde kullanıldığı gibi organik bileşikler için iyi bir çözücüdür. Etanol aynı zamanda bir hipnotiktir (uyku verici). Uyarıcı olduğuna inanılmasına karşın, beynin üst kısmının etkinliğini azaltır. Zehirlidir; ancak bir diğer alkol türü olan metanole oranla zehirliliği çok daha düşüktür (Uyar, 1992).

3.1.3.2. Etil asetat : Etil asetat (sistematik adıyla etil etanoat, kısaltılmış yazımıyla EtOAc veya EA), $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$ formülüne sahip bir organik bileşiktir. Bu renksiz sıvı bileşik, bazı yapıştırıcılar ve aseton gibi armut suyuna benzer tatlı bir kokuya sahiptir. Etil asetat, etanol ve asetik asitin esteri olup, sanayide güçlü bir çözücü olması nedeniyle sık üretilen bir maddedir. Etil asetat genel olarak çözücü ve seyreltici olarak kullanılır. Ucuz oluşu, düşük toksin özelliği ve hoş kokusu nedeniyle de tercih edilir. Örneğin reklam afişlerini temizlemek ve oje çıkarmak üzere aseton ve asetonitril içine konularak kullanılır. Bu çözücü, kahvedeki ve çaydaki kafeini uzaklaştırma yetisine sahiptir. Boyalarda aktivatör ve sertleştirici olarak da kullanılan etil asetat, şekerlemelerde, parfümlerde ve bazı meyvelerde kullanılır. Parfümlerde kullanımı sırasında çabucak buharlaştığından dolayı, parfümün kokusunu deride bırakarak yüzeyden ayrılır. (http://askimya.com/etil_asetat-937_tr_cd.html).

3.1.3.3. Metanol : Metil alkol (metanol, karbinol) CH_3OH , en basit yapıya sahiptir (http://tr.wikipedia.org/wiki/Metanol).

Bir zamanlar odundan damıtma yöntemi ile üretilmekteydi ve günümüzde de bazen ağaç alkolü (odun ruhu) olarak adlandırılmaktadır. Metil kelimesi Yunanca meti= şarap ve il =ağaç kelimelerinden gelmektedir. Günümüzde metanol karbon monoksit ve hidrojenden üretilmektedir. Metanol' ün dünyadaki yıllık üretimi yaklaşık 10 milyon tondur. Büyük kısmı formaldehit ve başka kimyasalların üretiminde kullanılır. Bir kısmında çözücü ve antifiriz olarak kullanılır. Metanol kendi başına oldukça toksiktir ve içildiğinde ya da buharı uzun süre solunduğunda körlüğe ve ölüme neden olabilir (Hart ve ark., 1998).

3.1.2.4. Kloroform: Kloroform, anestezik (uyuşturucu) etkisi olan bir kimyevi maddedir. Kimyasal formülü $CHCl_3$ olup, triklorometan da denir. Ağır, renksiz bir sıvı olup $61\text{ }^{\circ}C$ ' de kaynar. Yoğunluğu $1,48\text{ g/cm}^3$ ' tür. Kolay buharlaşır. Kimyasal işlemlerde çok kullanılır (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Kloroform>).

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstrelerin Hazırlanışı

Çalışmada kullanılacak olan karayosunları herbaryum teknikleriyle uygun koşullarda kurutulup, teşhis edildikten sonra aseptik şartlarda mekanik parçalayıcı yardımıyla toz haline getirildi. Daha sonra rutin yöntemler kullanılarak her bir karayosunu için 15 g tartılarak 150 mL etanol ile Soxhlet cihazına yerleştirildi. Bu işlem ayrı ayrı metanol, etil asetat ve kloroform ile tekrarlandı. 12 saat süren ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen tüm ekstratler $+4\text{ }^{\circ}C$ ' de saklanmıştır.

3.2.2 Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Çalışmada karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini belirlemede disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Bunun için her ekstraktan ayrı ayrı 6 mm çapındaki steril kağıt disklerle 50 μ L konsantrasyonundaki ekstratler emdirildi. Besiyeri olarak antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan Mueller Hinton Agar (OXOID) kullanılmıştır.

Kullanılan bakteri kültürlerini aktif hale getirebilmek için Brain Heart Infusion Broth (OXOID), maya kültürlerini aktifleştirebilmek için Malt Extract Broth (DIFCO) kullanıldı. Stok kültürlerden alınan bakteri kültürleri ayrı ayrı 4-5 μ L buyyonda süspansiyon edilerek, 2 ile 5 saat arasında etüvde inkübasyona tabi tutuldu. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu MacFarland standart tüpüne karşı steril serum fizyolojik ile ayarlandıktan sonra tüplere ekim yapıldı. Bakteri süspansiyonuna steril eküvyon daldırılarak karıştırıldı. Bu eküvyon, plağa sık aralıklarla taranmak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek inoküle edildi. Muller Hinton Agara (10^2 adet/mL) strainlerinin 24 saatlik buyyondaki kültürü ile %1 oranında aşılansak iyice çalkalandıktan sonra steril petri kutularına steril pipetlerde 15'er mL dağıtılarak besiyerinin homojen şekilde petri kutusu içinde dağılması sağlandı. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Süre sonunda petrilerin içine aseptik olarak farklı ekstratler emdirilmiş diskler yerleştirildi. Bakterilerin inoküle edildiği plaklar $35-37\text{ }^{\circ}C$ 'de 48 saat, mayaların inoküle edildiği plaklar $25-27\text{ }^{\circ}C$ 'de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. Buna ilaveten çözücü emdirilmiş olan diskler kontrol için, standart antibiyotik diskleri ise mukayese olarak kullanıldı (Collins ve Lyne,

1987; CLSI, 2010). Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

BÖLÜM 4**ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Araştırma Bulguları****4.1.1. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda Karayosununun Antimikrobiyal Aktivitesi**

Campyliadelphus chrysophyllus (Brid.) Kanda Karayosununun antimikrobiyal aktivitesini belirlenek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgulara göre karayosununun dört ekstraktında *Enterococcus faecalis* bakterisine karşı antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

Mikroorganizmaların ekstraktlara duyarlılıklarının farklılık gösterdiği ve *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosununun en az bir ekstraktının *Enterococcus faecalis* hariç tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Kloroform ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 19.1 mm zon çapı ile *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P bakterisine karşı gösterirken, Etanol ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 15.0 mm zon çapı ile *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı gösterdiği saptanmıştır.

Etil asetat ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 14.6 mm zon çapı ile *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürüne, Methanol ekstraktının ise en yüksek antimikrobiyal etkiyi 19.0 mm zon çapı ile *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 maya kültürüne karşı gösterdiği belirlenmiştir.

Tüm ekstraktların *Proteus vulgaris* ATCC 6337, *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Listeria innocua*, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), metisiline duyarlı *S. aureus* (MSSA), *Enterobacter cloacae*, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 kültürlerine karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1. - 4.3.).

4.1.2. *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. Karayosununun Antimikrobiyal Aktivitesi

Ctenidium molluscum (Hedw.) Mitt. Karayosununun antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre karayosunun hiçbir ekstraktı, *Enterobacter cloacae* bakterisine karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir.

Ekstraktların en az birinin, *Enterobacter cloacae* bakterisi hariç tüm mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Metanol ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 19.0 mm zon çapı ile *Rhodotorula rubra* DSM 70403 mikroorganizmasına karşı gösterirken, Etanol ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 12.0 mm zon çapları *Enterococcus faecalis* ve *Cryptococcus neoformans* mikroorganizmalarına gösterdiği tespit edilmiştir.

Kloroform ekstraktının en yüksek antimikrobiyal etkiyi 14.0 mm zon çapı ile *Candida albicans* ATCC 10239 mikroorganizmasına karşı gösterirken, Etil asetat ekstraktı en yüksek antimikrobiyal etkiyi 18.3 mm zon çapı ile *Candida albicans* ATCC 10239 mikroorganizmasına karşı gösterdiği saptanmıştır.

Tüm ekstraktların *Proteus vulgaris* ATCC 8427, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Klebsiella pneumoniae* UC57, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* ATCC 10239, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomces hansenii* DSM 70238, *Cryptococcus neoformans* test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlendi (Şekil 4.4.).

Çizelge 4.1. *Campyliadelphus chrysopyllus* (Brid.) Kanda karayosununun test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyonu (mm)*											
	Ekstrakt 50 µL				Mukayese Antibiyotikleri							
	A1	A2	A3	A4	E 15	C 30	0 30	A 10	G 120	NY 100	KETO 20	CLT 10
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6337	9.6	9.3	10.3	7.0	17.0	19.1	25.0	12.0	29.3	NT	NT	NT
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	13.3	11.6	13.6	14.0	17.1	20.6	13.0	15.8	30.0	NT	NT	NT
<i>Proteus mirabilis</i>	6.0	6.0	6.0	11.0	7.0	22.5	8.0	27.3	25.5	NT	NT	NT
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	12.6	15.0	6.0	7.0	18.5	26.3	31.0	15.3	30.0	NT	NT	NT
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	10.0	13.0	10.6	7.0	13.1	24.0	24.0	10.5	30.0	NT	NT	NT
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	8.3	8.0	9.3	14.0	19.1	30.0	12.3	35.0	30.0	NT	NT	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11.3	18.6	15.0	9.6	11.6	19.8	12.8	16.8	27.3	NT	NT	NT
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	7.0	19.0	10.0	7.0	22.3	36.2	6.0	27.3	40.0	NT	NT	NT
<i>Citrobacter freundii</i>	9.0	10.0	8.3	8.3	33.3	35.0	14.6	34.5	35.0	NT	NT	NT
<i>Serratia marcescens</i>	13.3	17.6	8.6	10.6	19.1	20.0	19.0	9.1	31.0	NT	NT	NT
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	11.0	13.3	11.6	13.6	11.5	19.8	9.8	8.0	25.0	NT	NT	NT
<i>Listeria innocua</i>	12.0	15.0	7.0	7.6	13.5	23.0	27.6	11.0	27.7	NT	NT	NT
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	15.1	19.1	10.0	14.0	32.3	25.0	13.0	35.0	35.0	NT	NT	NT
<i>Staphylococcus epidermidis</i> NRRL B – 4877	11.0	6.0	6.0	6.0	30.0	32.8	25.0	17.1	27.5	NT	NT	NT
<i>Klebsiella pneumoniae</i> UC57	6.0	6.0	12.3	6.0	33.0	35.0	30.0	38.5	36.0	NT	NT	NT
MRSA	10.0	11.3	12.3	9.6	30	31.3	17.0	35.0	31.0	NT	NT	NT
MSSA	9.3	10.3	9.0	16.1	15.5	25.0	11.0	39.0	27.0	NT	NT	NT
<i>Enterococcus faecalis</i>	6.0	6.0	6.0	6.0	30.3	30.0	14.1	34.6	30.0	NT	NT	NT
<i>Enterobacter cloacae</i>	7.0	7.3	9.6	11.0	30.0	31.6	16.6	38.0	29.6	NT	NT	NT
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	6.0	14.0	6.0	14.6	NT	NT	NT	NT	NT	20.0	21.2	15.2
<i>Rhodotorula rubra</i> DSM 70403	9.3	13.0	12.0	12.6	NT	NT	NT	NT	NT	18.0	22.2	16.2
<i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 70238	19.0	10.0	10.0	13.0	NT	NT	NT	NT	NT	16.2	14.0	18.2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	13.0	12.0	6.0	9.0	NT	NT	NT	NT	NT	22.0	18.2	20.2

A 1	: Methanol ekstraktı
A 2	: Kloroform ekstraktı
A 3	: Etanol ekstraktı
A 4	: Etil asetat ekstraktı
E 15	: Erythromycin(15 µg/disc)
C 30	: Chloramphenicol (30 µg/disc)
O 30	: Oxytetracycline (30 µg/disc)
A 10	: Ampicillin (10 µg/disc)
G120	: Gentamicin (120 µg/disc)
NY 100	: Nystatin (100 µg/disc)
KETO 20	: Ketacanazole (20 µg/disc)
CLT 10	: Clotromizole (10 µg/disc)
NT	: Denenmedi (Not Tested)

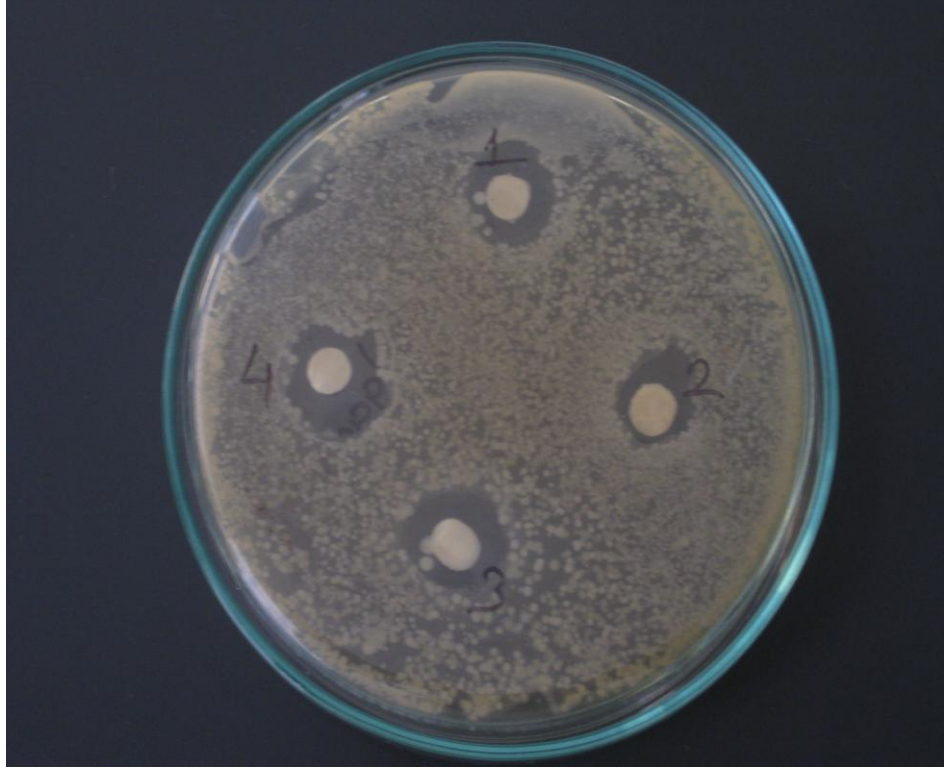
(*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

Çizelge 4.2. *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosununun test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyonu (mm)*											
	Ekstrakt 50 µL				Mukayese Antibiyotikleri							
	B1	B2	B3	B4	E 15	C 30	0 30	A 10	G 120	NY 100	KETO 20	CLT 10
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6337	10.0	7.0	11.0	6.0	17.0	19.1	25.0	12.0	29.3	NT	NT	NT
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	10.0	7.0	11.0	7.0	17.1	20.6	13.0	15.8	30.0	NT	NT	NT
<i>Proteus mirabilis</i>	6.0	6.0	10.0	9.0	7.0	22.5	8.0	27.3	25.5	NT	NT	NT
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	15.0	7.0	6.0	7.0	18.5	26.3	31.0	15.3	30.0	NT	NT	NT
<i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048	8.6	8.1	9.0	7.0	13.1	24.0	24.0	10.5	30.0	NT	NT	NT
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	9.3	8.0	9.6	12.3	19.1	30.0	12.3	35.0	30.0	NT	NT	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	11.3	9.0	11.6	8.0	11.6	19.8	12.8	16.8	27.3	NT	NT	NT
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10.0	8.0	11.6	7.0	22.3	36.2	6.0	27.3	40.0	NT	NT	NT
<i>Citrobacter freundii</i>	9.3	8.6	8.6	6.0	33.3	35.0	14.6	34.5	35.0	NT	NT	NT
<i>Serratia marcescens</i>	9.6	10.6	10.0	8.3	19.1	20.0	19.0	9.1	31.0	NT	NT	NT
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 7064	10.6	8.0	11.6	8.0	11.5	19.8	9.8	8.0	25.0	NT	NT	NT
<i>Listeria innocua</i>	7.0	6.0	10.0	6.6	13.5	23.0	27.6	11.0	27.7	NT	NT	NT
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	13.6	12.0	10.3	7.0	32.3	25.0	13.0	35.0	35.0	NT	NT	NT
<i>Staphylococcus epidermidis</i> NRRL B – 4877	9.0	6.0	10.0	7.3	30.0	32.8	25.0	17.1	27.5	NT	NT	NT
<i>Klebsiella pneumoniae</i> UC57	11.6	10.3	11.0	8.0	33.0	35.0	30.0	38.5	36.0	NT	NT	NT
MRSA	6.0	8.3	6.0	6.0	30	31.3	17.0	35.0	31.0	NT	NT	NT
MSSA	10.3	6.0	10.6	10.6	15.5	25.0	11.0	39.0	27.0	NT	NT	NT
<i>Enterococcus faecalis</i>	6.0	8.3	12.0	7.0	30.3	30.0	14.1	34.6	30.0	NT	NT	NT
<i>Enterobacter cloacae</i>	6.0	6.0	6.0	6.0	30.0	31.6	16.6	38.0	29.6	NT	NT	NT
<i>Candida albicans</i> ATCC 10239	10.0	14.0	10.0	18.3	NT	NT	NT	NT	NT	20.0	21.2	15.2
<i>Rhodotorula rubra</i> DSM 70403	19.0	10.0	9.3	9.0	NT	NT	NT	NT	NT	18.0	22.2	16.2
<i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 70238	6.0	10.0	8.0	15.0	NT	NT	NT	NT	NT	16.2	14.0	18.2
<i>Cryptococcus neoformans</i>	9.3	9.0	12.0	11.0	NT	NT	NT	NT	NT	22.0	18.2	20.2

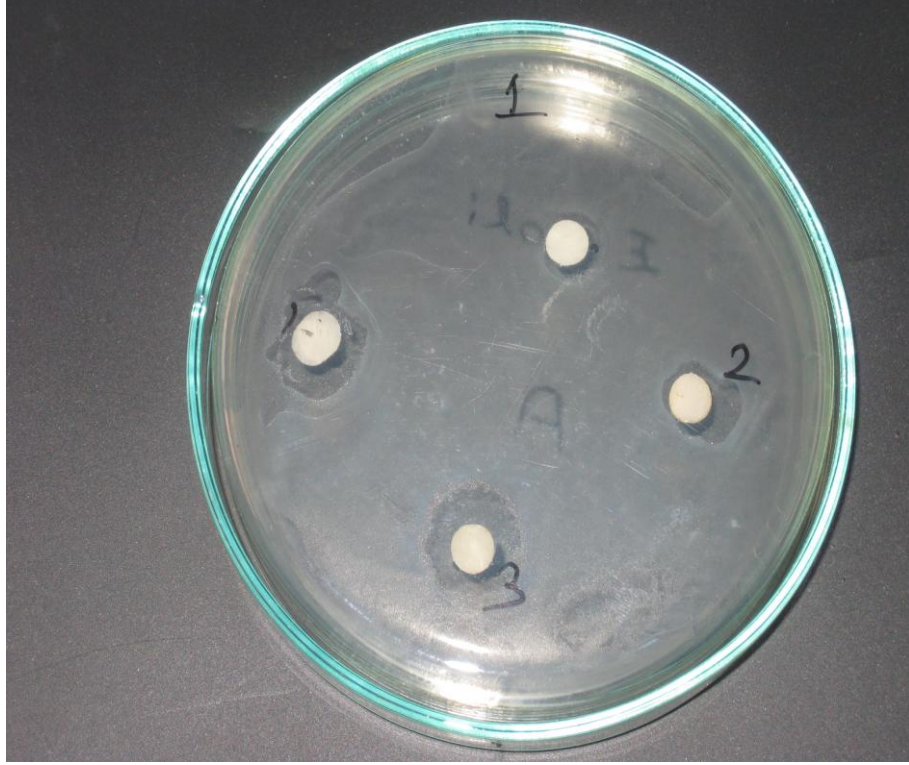
B 1	: Methanol ekstraktı
B 2	: Kloroform ekstraktı
B 3	: Etanol ekstraktı
B 4	: Etil asetat ekstraktı
E 15	: Erythromycin(15 µg/disc)
C 30	: Chloramphenicol (30 µg/disc)
O 30	: Oxytetracycline (30 µg/disc)
A 10	: Ampicillin (10 µg/disc)
G120	: Gentamicin (120 µg/disc)
NY 100	: Nystatin (100 µg/disc)
KETO 20	: Ketacanazole (20 µg/disc)
CLT 10	: Clotromizole (10 µg/disc)
NT	: Denenmedi (Not Tested)

(*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6 mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.



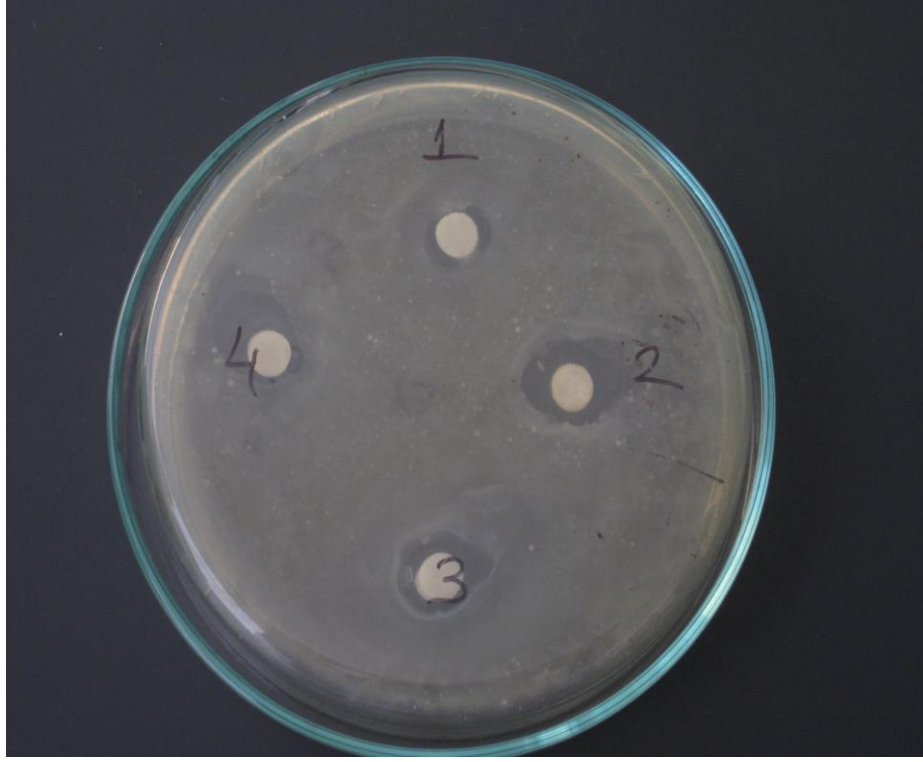
Şekil 4.1. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda ekstraktlarının *Proteus vulgaris* ATCC 8427 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1:Metanol ekstraktı 2: Kloroform ekstraktı 3: Etil alkol ekstraktı 4: Etil asetat ekstraktı.



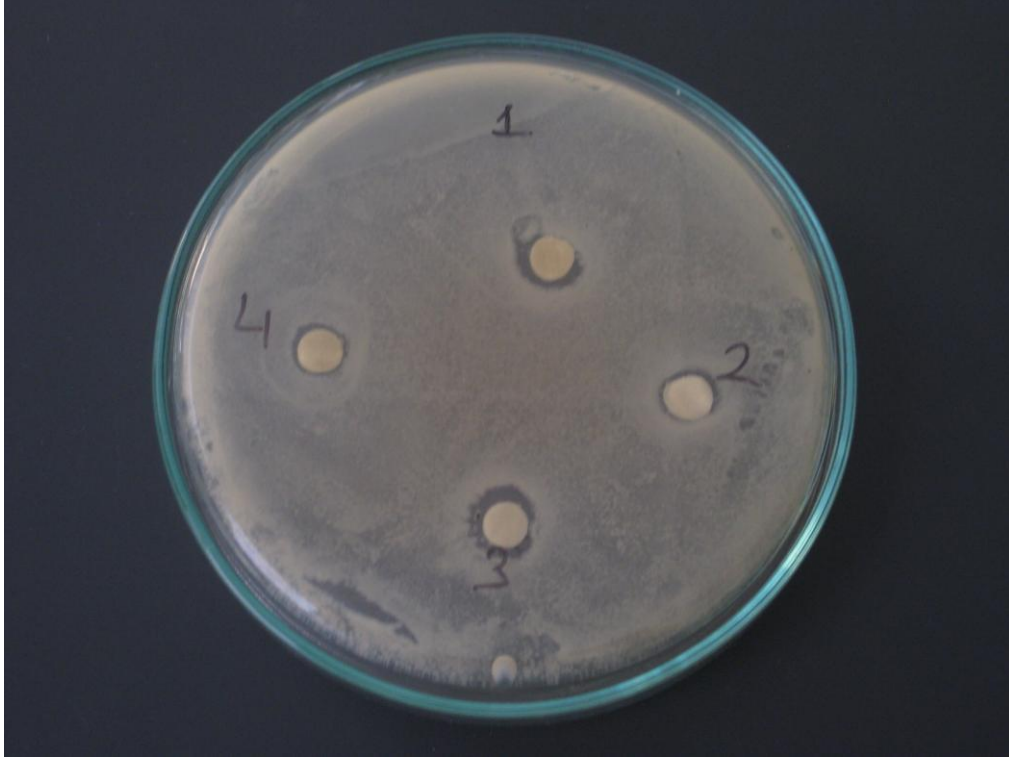
Şekil 4.2. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda ekstraktlarının *Escherichia coli* ATCC 10536 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1:Metanol ekstraktı 2: Kloroform ekstraktı 3: Etil alkol ekstraktı 4: Etil asetat ekstraktı.



Şekil 4.3. *Campyliadelphus chrsophyllus* (Brid.) Kanda karayosununun *Rhodotorula rubra* DSM 70403 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1:Metanol ekstraktı 2: Kloroform ekstraktı 3: Etil alkol ekstraktı 4: Etil asetat ekstraktı.



Şekil 4.4. *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. ekstraktlarının *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1:Metanol ekstraktı 2: Kloroform ekstraktı 3: Etil alkol ekstraktı 4: Etil asetat ekstraktı.

4.2. Tartışma

Çalışmada her iki karayosununun metanol, kloroform, etanol, etil asetat ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi bazı Gr (-) ve Gr (+) bakteriler ile bazı maya kültürleri üzerine antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2.' de verilmiştir.

Ekstrelerin, test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin farklılık gösterdiği görülmüştür. *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosunun hiçbir ekstresi *Enterococcus faecalis* bakterisine, *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosununun ise *Enterobacter cloacae* bakterisi üzerine antagonistik etki göstermediği saptanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan iki karayosununun dört ekstraktından en az birinin, her bir karayosunu için antagonistik etki göstermedikleri birer mikroorganizma haricinde tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal etkilerinin farklı mikroorganizmalar üzerinde farklı olmasının nedeni, farklı solventlerin farklı bileşenleri çözmesinden kaynaklandığı düşünülebilir. Dolayısı ile her iki karayosununda bioaktif bileşikler içerdiğini düşünülebilir.

Campyliadelphus chrysophyllus karayosunun etil asetat ekstraktı *Proteus vulgaris* ATCC 8427 bakterisine karşı O30 mukayese antibiyotiğine nazaran daha yüksek aktivite gösterirken, diğer antibiyotiklere göre daha az etki gösterdiği belirlenmiştir. *Campyliadelphus chrysophyllus* karayosununun etil asetat ekstraktı *Proteus mirabilis* bakterisine karşı E15 ve O30 mukayese antibiyotiklerine kıyasla daha yüksek antagonistik etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Campyliadelphus chrsophyllus karayosununun metanol ekstraktı *Proteus vulgaris* ATCC 8427 bakterisine karşı O30 antibiyotiği ile benzer etki göstermiştir.

Campyliadelphus chrysophyllus karayosunun tüm ekstreleri, mukayese antibiyotikler ile (E15: Erythromycin, C30: Chloramphenicol, O30: Oxytetracycline, A10: Ampicillin, G120:Gentamicin) karşılaştırıldığında *Proteus vulgaris* ATCC 6337, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus epidermidis* NRRL B- 4877, *Klebsiella pneumoniae* UC57, MRSA, *Enterobacter cloaceae* bakterilerine karşı mukayese antibiyotiklerine nazaran daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber tüm mukayese antibiyotikleri *Entereococcus faecalis* bakterisi üzerinde yüksek antagonistik etki gösterirken *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosunu ekstrelerinin antagonistik etki göstermediği saptanmıştır.

Campyliadelphus chrysophyllus karayosunun en yüksek antifungal etkiyi metanol ekstresi ile *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 fungusuna karşı gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca *Campyliadelphus chrysophyllus* karayosunun metanol ekstraktları *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 fungusu üzerinde diğer ekstraktlara ve mukayese antibiyotikleri NY100, KETO 20 VE CLT 10 kıyasla daha yüksek antifungal etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

Campyliadelphus chrysophyllus (Brid.) Kanda karayosunun etanol ve metanol ekstraktları *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 bakterisine karşı A10 antibiyotiği ile benzer etki gösterdiği belirlenmiştir.

Literatür taramalarında *Campyliadelphus chrysophyllus* karayosununun antimikrobiyal aktivitesine yönelik çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak Altuner (2008) çalışmasında *Campyliadelphus chrysophyllus* ile yakın bir tür olan *Calliargonella cuspidata* (Hedw.) Locske karayosununun test mikroorganizmalarına karşı bir antimikrobiyal etkisi olmadığını tespit etmiştir. Yine *Campyliadelphus chrysophyllus* ile yakın bir tür olan *Palustriella commutata* (Hedw.) Ochyra karayosununun aseton ve metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon yöntemiyle araştıran İlhan ve ark. (2006), bu karayosununun maya ve küflere karşı inaktif, aseton ekstraktının test bakterilerine karşı aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Dülger ve ark. (2009b), antimikrobiyal aktivitedeki farklılıkların türden türe değişebileceğini, aktif maddeleri açığa çıkarmak için kullanılan ekstraksiyon protokollerinden ve antimikrobiyal etki belirleme metodlarından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Altuner (2008), ekstraksiyon için kullanılan çözücü, lokasyon parametresinin özellikle de karayosununun yaşadığı fiziksel çevrenin antimikrobiyal aktivitesi açısından etkili olduğunu tespit etmiştir. Seçilen örneklerin yaşadıkları fiziksel ortamların dikkate alınmasını ve yaşadıkları ekolojik çevrenin karakterizasyonuna da dikkat edilmesi gerektiğini belirtmiştir. *Campyliadelphus chrysophyllus* ile yakın türleri olan *Calliargonella cuspidata* (Hedw.) ve *Palustriella commutata* (Hedw.) Ochyra elde edilen sonuçlar arasındaki farklılığın, antimikrobiyal aktivitenin türden türe değişmesine, lokalite farklılığına ve ekstraksiyon protokollerinin farklılığından kaynaklanıyor olabileceğini söylenebilir.

Ctenidium molluscum karayosunu ekstraktları genel olarak antibiyotiklere kıyasla daha az antimikrobiyal etki göstermiştir. Ancak etanol ekstraktlarının *Proteus mirabilis* bakterisine karşı E15 ve O30 mukayese antibiyotiklerine nazaran daha fazla antogonistik etki göstermiştir. Metanol ekstraktı ise *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı

A10 mukayese antibiyotiği ile benzer etki göstermiştir. Etil asetat ekstraktı *Escherichia coli* ATCC 10536 bakterisine karşı, metanol ekstraktı *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P bakterisine karşı O30 mukayese antibiyotiği ile benzer etki göstermiştir.

Ctenidium molluscum (Hedw.) Mitt. ekstraktlarının antifungal etkileri genelleme yaparsak mukayese antibiyotiklerine oranla düşüktür. Fakat etanol ekstraktı *Rhodotorula rubra* DSM 70403 fungusuna karşı NY100 ve CLT10 mukayese antibiyotiklerinden daha fazla etki gösterdiği görülmüştür. *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürünün etil asetat ekstraktına, CLT10 mukayese antibiyotiğinden daha duyarlı olduğu görülmüştür.

Altuner (2008), tez çalışmasında 20 karayosununun 8 farklı çözücü ile elde edilen ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini incelemiştir. Karayosunu örnekleri sıvı azot ile ezilerek ekstraksiyona hazırlanmış ve sıvı azot kullanılarak ezilip toz hâline getirilmiş örnekler tartılarak eppendorf tüplerine alındıktan sonra, üzerlerine ekstraksiyon çözücülerinden konularak, örneklerden ekstraktlar elde edilmiştir. Disk difüzyon metodu ile çalışmış ve devamında MIC ve MBC değerlerini belirlemiştir. Çalışmasında kullandığı *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. var. *molluscum* *Hypnum molluscum* Hedw. J karayosununun disk difüzyon sonuçlarına göre, etil alkol, metil alkol, etil asetat, kloroform ekstraktları *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karşı etki göstermemiş, dietil ekstraktı *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 karşı antimikrobiyal etki gösterirken, hiçbir ekstraktın *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Candida albicans* ATCC 95071 etki göstermediğini saptanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt karayosununun etil asetat, etanol, kloroform ve metanol ekstraktları *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10239, *Escherichia coli* ATCC 10536 üzerine antimikrobiyal etki göstermiştir. Çalışma sonuçları arasındaki farklılığın kullanılan çözücü, ekstraksiyon protokolleri ve lokaliteden kaynaklandığını düşünülebilir.

Veljic ve ark. (2009), Sırbistan'da toplanan *Fontinalis antipyretica*, *Hypnum cupressiforme* ve *Ctenidium molluscum* karayosunlarının metanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Metanol ekstraktının inhibiyon zonları göre *Escherichia coli* ATCC 25922; 6.67 mm, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228; 5.00 mm, *Bacillus subtilis* 10707; 8.67 mm zon oluşturmuştur. Bizim çalışmamızda ise metanolik ekstraktlar disk difüzyon sonuçları *Escherichia coli* ATCC 10536; 8.3 mm, *Staphylococcus epidermidis* NRLL B -4877; 11.0 mm, *Bacillus subtilis* ATCC 6633; 7.0 mm zon oluşturmuştur. Ayrıca disklere 2 mg ekstrakt emdirirlerken, bu çalışmada 50 µL

emdirilmiştir. İki çalışma bulguları arasında farklılık göze çarpmaktadır. Dülger ve ark. (2009a), *Ctenidium molluscum* ile birlikte beş karayosunun etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Bu çalışmada kullanılan materyal miktarı ve ekstraksiyon protokolü farklılık göstermektedir. Bahsedilen çalışmada ortak mikroorganizmalar kullanılmış olup, ekstratların inhibisyon zonlarına bakılacak olursa sırasıyla; *Bacillus cereus* 11.2 mm, *Bacillus subtilis* 12.4 mm, *Micrococcus luteus* 11.6 mm, *Staphylococcus aureus* 12.6 mm, *Escherichia coli* 10.8 mm, *Enterobacter aerogenes* 10.6 mm, *Proteus vulgaris* 9.8 mm, *Proteus mirabilis* 9.6 mm, *Pseudomonas aeruginosa* 10.4 mm, *Candida albicans* 10.8 mm, *Rhodotorula rubra* 12.4 mm ve *Debaryomyces hansenii* 11.6 mm zon oluşturmuştur. Çalışmamızda ise etanol ekstraktları sonuçları ile bahsedilen çalışmanın sonuçları arasında paralellik mevcuttur. Ancak *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı etanol ekstraktı hiçbir antimikrobiyal etki göstermemiştir. Ayrıca *Rhodotorula rubra* 9.3 mm ve *Enterobacter aerogenes* 9.0 mm zon oluşturmuştur. Dülger ve ark. (2009a) sonuçları ile çalışmamızın sonuçları kıyaslandığında bu üç mikroorganizmaya karşı *Ctenidium molluscum* ekstraktlarının daha etkili olduğunu görülmektedir.

Dülger ve ark. (2009a) ile Veljic ve ark. (2009) *Ctenidium molluscum* (Hedw.) Mitt. karayosununun antimikrobiyal aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmaların sonuçları ile bu çalışmanın sonuçları arasındaki farklılığın nedeni, ekstraksiyon protokollerinin, örneklerin toplandığı lokalitenin dolayısı ile farklı ekolojik çevrenin ve mevsimsel koşulların farklı olmasından kaynaklandığını söylenebilir.

**BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER**

Çalışmamızda kullanılan karayosunlarının içerdikleri bioaktif bileşikleri daha iyi ortaya çıkarmak amacıyla farklı solventler kullanıldı. Karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesi Gr (-) ve Gr (+) 19 bakteri ve 4 maya kültürü kullanılarak geniş spektrum oluşturacak biçimde ortaya çıkarıldı.

Çalışmamızda kullanılan karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesinin oldukça geniş bir spektruma sahip olduğu görülmektedir. Bu yeni antimikrobiyal ilaçlara kaynak olması açısından oldukça önemli bir sonuçtur.

Ctenidium molluscum (Hedw.) Mitt. karayosunun antimikrobiyal aktivitesi önceki çalışmalarda ele alındığında antimikrobiyal etkinliğinin oldukça geniş olduğu kanısına varılabilmektedir.

Campyliadelphus chrysophyllus (Brid.) Kanda karayosunun antimikrobiyal aktivitesi ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya literatür taramalarında rastlanmamıştır. Bu nedenle *Campyliadelphus chrysophyllus* (Brid.) Kanda karayosunun antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmamız bir ilk niteliğindedir. Antifungal ve antibakteriyel etkiye sahip olduğunun gözlemlediğimiz bu karayosunu ileri ki farmakolojik çalışmalar için de önemli bir doğal kaynaktır.

Günümüz dünyasında antimikrobiyal ilaçlara direnç gelişiminin artması, enfeksiyon hastalıklarıyla mücadelenin zorlaşması, sentetik ilaçların yan etkilerinin oldukça fazla olması sekonder metabolitler açısından zengin bitkiler üzerindeki çalışmaların önemini artırmaktadır. Karayosunların elde edilecek yeni bileşikler hastalıkların tedavisi için umut vericidir. Ülkemizde doğal olarak yetişen bu iki karayosunu türünün daha ileri kimyasal, farmakolojik araştırmaları yapılarak, antimikrobiyal bileşenlerinin belirlenmesi, çeşitli enfeksiyonların ve mikrobiyal hastalıkların tedavisi için önemli bir adım olacaktır.

KAYNAKLAR

- Akalın H.E., 1994. *Antibiyotik Kullanımı ile Bakteriyal Direnç Gelismesi Arasındaki İlişkiler, Antibiyotiklere Direnç Mekanizmaları ve Antibiyotik Duyarlılık Testleri* (Ed: Akalın, H.E.), Pfizer İlaçları A.Ş.
- Altuner E.M., 2008. Bazı Karayosunu Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Asawaka Y., 2007. Biologically Active Compounds From Bryophytes. *Pure Appl. Chem.*, 79 (4): 557-580.
- Aysel V. ve Şenkardeşler A., 2002. *Tohumusuz Bitkiler Sistematiği Karayosunları (Bryophyta)* (Cilt III), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Yayınları, Yayın No:29, Çanakkale, 1-11.
- Balkar N., Korcan S., E. ve Konuk M., 2010 Afyonkarahisar ilinden izole Edilen Actinomycet İzolatlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *BiyoTeknoloji Elektronik Dergisi*, (1): 21-26.
- Basile A., Sorbo S., Giordano S, Lavitola A. ve Castaldo Cobiانchi R., 1998. Antibacterial activity in *Pleurochaete squarrosa* extract (Bryophyta). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 10: 169-172.
- Basile A., Giordano S., Lopez-Saez J. A. ve Cobiانchi R.C. , 1999. Antibacterial Activity of Pure Flavonoids İsolated From Mosses. *Phytochemistry*, 52: 1479-1482
- Baydar H., 2005. *Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi*, SDÜ Yayın No: 51, 126s.
- Beike A. K., Eva L. Decker E. L., Frank W., Lang D., Vervliet-Scheebaum M., Andreas D. Zimmer A.D. ve Reski R., 2010. Applied Bryology Bryotechnology. *Tropical Bryology*, 31: 22-32.
- Bilgehan H., 2004. *Klinik Mikrobiyoloji Tanı* (4. Baskı). Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İzmir: 145–153.
- Bodade R. G., Borkar P. S, Md. Saiful Arfeen ve Khobragade C. N. 2008. *in vitro* Screening of Bryophytes for Antimicrobial Activity. *Journal of Medicinal Plants*, 7 (4): 23–28.

- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2010. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, Twentieth Informational Supplement, M100-S20, CLSI, Wayne, PA.
- Collins C.H., Lyne P.M. ve Grange J.M., 1989. *Microbiological Methods*. 6th edn, Butterworths, London, pp. 410.
- Cowan M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.
- Çelen S., 2006. Türkiye’ de Yayılış Gösteren Dört *Thymus* Türünün Uçucu Yağ Bileşimleri, Antibakteriyel ve Antifungal Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.
- Çakı Z., 2009. Ege Denizi Kıyılarında Bulunan Bazı Makro Alg Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Saptanması (Doktora Tezi). Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa.
- Dülger B., Yayıntaş Tonguç Ö. ve Gönüz A., 2005. Antimicrobial Activity of Some Mosses from Turkey. *Fitoterapia*, 76: 730-732.
- Dülger B., Hacıoğlu N. ve Uyar G., 2009a. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Mosses From Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (5): 4093-4096.
- Dülger B., Hacıoğlu N., Erdoğan H. ve Aysel V., 2009b. Antimicrobial activity of Some Brown Algae from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (5): 4113-4117.
- Elibol B., 2010 Bazı Akrokarpik Karayosunlarının Antifungal ve Antibakteriyel Etkilerinin Belirlenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Ezer T., 2001. Karanfil Dağları ve Ecemiş Vadisinin Bryophyta Florası (Yüksek Lisans Tezi), Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Glime., 2006. *Bryophyte Ecology* (Vol 1). Retrieved November 11, 2011, from <http://www.bryoecol.mtu.edu/>.
- Gür D., 1999. Bakteriler İçin Kullanılan Duyarlılık Testleri *ANKEM Derg*, 13 (3): 322-324.
- Hart H., Craine L. E. ve Hart D.J., 1998. *Organik Kimya* (9. Baskı, Çeviren : Tahsin Uyar). Palme Yayıncılık, 225-225.
- Hazer, 2010. Son Literatür ve Herbaryum Verilerine Göre Türkiye Karayosunlarının Floristik Dağılımı ve Elektronik Veritabanının Oluşturulması (Yüksek Lisans Tezi). Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.

- İlhan S., Savaroğlu F., Çolak F., İşcen F. C. ve Erdemgil F. Z., 2006. Antimicrobial Activity of *Palustriella commutata* (Hedw.) Ochyra Extracts (Bryophyta). *Turk J Biol* 30, 149-152.
- Köksal F., Özcan K., Yarkin F. ve Yaman A., 2006. *Klinik Mikrobiyoloji Laboratuvar Klavuzu*. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. Adana,41: 61-62.
- Köksal İ., 2010. Antibiyotik Duyarlılık Testleri: Laboratuardan Kliniğe (İn-Vitro Parametrelerin Kliniğe Yansımaları). *ANKEM Derg*, 24(Ek 2):159-161.
- Kuyucu N., 2007. Antibiyotik Direnci. *Cocuk Enf Derg*, Özel Sayı 1: 33-834.
- Küçüker O., 2000. *Tıbbi Biyologlar için Botanik Ders Kitabı* (Genişletilmiş 2. baskı) İstanbul Üniversitesi, Cerrah Paşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, Rektörlük Yayın No: 3833, Fakülte Yayın No : 186, 190-191.
- Lewinson W., 2008. *Tıbbi Mikrobiyoloji ve İmmünoloji* (Çeviri editörü: Tuncay Özgünen) Güneş Tıp Kitap Evleri, 69-85.
- Montenegro G., Portaluppi M.C., Salas F.A. ve Diaz M.F., 2009. Biological Properties of the Chilean Native Moss *Sphagnum magellanicum*. *Biol Res*, 42: 233–237.
- Pejin B., Sabovljević A., Soković M., Glamočlija J. , Ćirić A., Vujičić M ve Sabovljević M., 2011. Antimicrobial activity of *Rhodobryum ontariense* *Hemijaska industrija Online*, 01: 100.
- Russel M.D., 2010. Antibiotic Activity of Extracts from Some Bryophytes in South Western British Columbia. *Medical Student Journal of Australia*, 2: 9-14.
- Richardson D.H.S., 1981. *The Biology of Mosses*. Blackwell scientific publications, Oxford.
- Sabovljević A., Soković M., Sabovljević M. ve Grubisic D., 2006. Antimicrobial Activity of *Bryum argenteum*. *Fitoterapia*, 77: 144-145.
- Sabovljević A., Soković M., Glamočlija J., Ćirić A., Vujičić M, Pejin B. ve Sabovljević M., 2010. Comparison of Extract Bio-activities of In situ ve In vitro Grown Selected Bryophyte Species. *African Journal of Microbiology Research*, 4 (9): 808-812.
- Sabovljević A., Soković M., Glamočlija J., Ćirić A., Vujičić M, Pejin B ve Sabovljević M., 2011. Bio-activities of Extracts From Some Axenically Farmed And Naturally Grown Bryophytes . *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (4), 565–571.
- Saran B., Karahan Z. C., 2010. Antimikrobiyal Ajanlara Genel Bakış. *Turk Urol Sem*, 1: 216-20.

- Saxena ve Harrinder DK., 2004. Uses of Bryophytes. *Resonance*, 1: 54-65.
- Savaroğlu F., İlhan S. ve Filik-İşcen C., 2011. An evaluation of The Antimicrobial Activity of Some Turkish mosses. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (14): 3286-3292.
- Uyar, T., 1992. *Organik Kimya*. Güneş Kitapevi, Ankara, 483-484.
- Üçüncü O., Cansu T.C., Ozdemir T, Alpay Karaođlu Ş. ve Yaylı N., 2010. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oils of Mosses (*Tortula muralis* Hedw., *Homalothecium lutescens* (Hedw.) H. Rob., *Hypnum cupressiforme* Hedw., and *Pohlia nutans* (Hedw.) Lindb.) from Turkey, *Turk J Chem* 34: 825 – 834.
- Veljić M., Durić A., Soković M., CirićA., Glamočlija J. ve Marin P.D., 2009. Antimicrobial Activity of Methanol Extracts of *Fontinalis antipyretica* , *Hypnum cupressiforme* and *Ctenidium molluscum*. *Ach.Biol.Sci.Belgrade*, 62(2): 225-229.
- Yıldırım Y., 2010. Antimikrobiyel Duyarlılık Testleri; İlgili Metodlar, Sonuçların Yorumlanması ve Kanatlılarda Bulunan Bazı Bakterilerdeki Dirençlilik. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 7 (2): 117-129.
- Yüce A., 2001. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. *Klimik Dergisi*, 14 (2): 41-46.
- Yücel D., 2010. Sakarya İli Sanayi Bölgesinin Yakın Çevresinde Ve Şehir Merkezinde Oluşturduğu Atmosferik Ağır Metal Birikim Seviyelerinin Bir Monitör Karayosunu (*Hypnum cupressiforme* Hedw.) ve Topraklar Üzerinden Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi), Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak.
- http://askimya.com/etil_asetat-937_tr_cd.html (07.01.2012)
- http://wisplants.uwsp.edu/bryophytes/photos/CAMCHR_ML.jpg (04. 01. 2012)
- <http://www.biopix.dk/photos/jcs-ctenidium-molluscum-51651.jpg> (04.01.2012)
- <http://www.doa.gov.tr/doadergisi/doa4/d9.pdf> (08. 01.2012)
- <http://dogaokulu.net/notlar/karayosunlari.pdf> (20.11.2011)
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Kloroform> (27.12.2011)
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Metanol> (27.12.2011)
- <http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/001/WebFiles/fna27/FNA27-Chapter2.pdf> (07.01.2012)

<http://flora.huh.harvard.edu/FloraData/001/WebFiles/fna27/FNA27-Chapter1.pdf>
(07.01.2012)

ÇİZELGELER

	Sayfa No
Çizelge 2.1. Antimikrobiyal İlaçlara Direnç Mekanizmaları	6
Çizelge 2.2. Tıbbi briyofitler ve kullanımları.....	15
Çizelge 4.1. <i>Campyliadelphus chrysopyllus</i> (Brid.) Kanda karayosununun test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi	30
Çizelge 4.2. <i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt. karayosununun test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	32

ŞEKİLLER	Sayfa No
Şekil 2.1. <i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) Kanda	18
Şekil 2. 2. <i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt.	19
Şekil 4.1. <i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) Kanda karayosununun <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427 bakterisine karşı Antimikrobiyal Aktivitesi	34
Şekil 4.2. <i>Campyliadelphus chrysophyllus</i> (Brid.) Kanda karayosununun <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	35
Şekil 4.3. <i>Campyliadelphus chrsophyllus</i> (Brid.) Kanda karayosununun <i>Rhodotorula rubra</i> DSM 70403 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.....	36
Şekil 4.4. <i>Ctenidium molluscum</i> (Hedw.) Mitt. ekstraktlarının <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048 mikroorganizmasına karşı antimikrobiyal aktivitesi	37

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı : Gülşah Kahya

Doğum yeri :Lapseki

Doğum Tarihi : 31.07. 1988

EĞİTİM DURUMU:

Lisans öğrenimi : 2005-2010 Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans : 2010 – 2012 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

Çanakkale Boğazı Kıyı Sularının Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Kirlilik Parametrelerinin Araştırılması – X. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresinde yayımlanmıştır, 2011.

İŞ DENEYİMİ:

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi –
Biyokimya Laboratuvarı, 2009.

İLETİŞİM:

E- posta adresi : glshkhy@hotmail.com