



T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI PLEUROKARPIK KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

EMEL ÇOLAK

Ağustos 2010

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI PLEUROKARPİK KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

EMEL ÇOLAK

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Recep KARA

Ağustos 2010

Emel ÇOLAK tarafından **Yrd. Doç. Dr. Recep KARA** danışmanlığında hazırlanan “**Bazı Pleurokarpik Karayosunlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji** Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. Ayten ÖZTÜRK, Niğde Üniversitesi



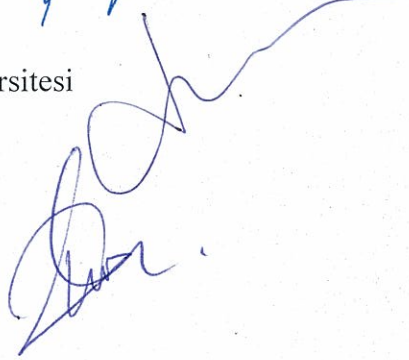
Üye : Doç. Dr. Gökçen YUVALI ÇELİK, Erciyes Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Recep KARA, Niğde Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Dilşad ONBAŞLI, Erciyes Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Tülay EZER, Niğde Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından .../.../2010 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun .../.../2010 tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../2010

Doç. Dr. Nurettin ACIR

Enstitü Müdürü

ÖZET

BAZI PLEUROKARPİK KARAYOSUNLARININ ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİNİN İNCELENMESİ

ÇOLAK, Emel

Niğde Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Yrd. Doç. Dr. Recep KARA

İkinci Danışman : Doç. Dr. Gökçen YUVALI ÇELİK

Ağustos 2010, 70 sayfa

Bu çalışmada , *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dixon, *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr. , *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Homalothecium sericeum* (Hedw.) Br.Eur., ve *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook & Taylor. türlerinin antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Araştırmada dört farklı çözücü (etil alkol, metil alkol, kloroform, aseton) kullanılarak özütler elde edilmiş ve bu özütlerin *Staphylococcus aureus* Koag (+), *Bacillus subtilis* RSKK 244, *B. cereus* 863, *Esherichia coli* ATCC 35218, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeroginosa* ATCC 27853 referans bakterileri ile *Candida albicans* ATCC 16231, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC referans mayaları üzerindeki inhibisyon etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiş, elde edilen bu sonuçlar standart antibiyotiklerle mukayese edilmiştir. Ayrıca, antimikrobiyal etkisi 8mm'lik zon çapından yüksek olan ekstraktların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) çalışılmıştır. Çalışmada sonuç olarak en yüksek inhibisyon zon 11mm'lik zon çapı ile *Anomodon viticulosus* karayosunu türünün aseton özütünde *S.cerevisiae* ATCC referans mayasına karşı görülürken, en düşük inhibisyon zonu *Platyhypnidium riparioides* örneğinin etil alkol özütünde 6,3mm'lik zon çapı ile *S.cerevisiae* ATCC referans mayasına karşı tespit edilmiştir. MİK çalışmasında en yüksek konsantrasyon 14% ile tespit edilirken en düşük konsantrasyon 7% ile tespit edilmiştir.

Anahtar sözcükler : Karayosunu, Pleurokarp, Antimikrobiyal etki. MİK

SUMMARY

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SOME PLEUROCARPIC MOSSES

ÇOLAK, Emel

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor : Assistant Professor Dr. Recep KARA

Co-Advisor : Associate Professor Dr. Gökçen YUVALI ÇELİK

August 2010, 70 pages

In this study, *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dixon, *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr., *Hypnum cupressiforme* Hedw., *Homalothecium sericeum* (Hedw.) Br.Eur., and *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook & Taylor. mosses species were investigated. Study, four different solvents (ethyl alcohol, methyl alcohol, chloroform, acetone) and extracts were obtained and this extracts inhibition effect determination on *Staphylococcus aureus* Koag (+), *Bacillus subtilis* RSKK 244, *B. cereus* 863, *Esherichia coli* ATCC 35218, *Salmonella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 reference bacterias and *Candida albicans* ATCC 16231, *Saccharomyces cerevisiae* ATCC reference yeasts with disk diffusion method and obtained results were compared with Standard antibiotics. In addition this study, inhibition concentration (MIC) was studied with minimum 8mm diameter zones. Study as a result the highest inhibition zone 11 mm zone diameter with *Anomodon viticulosus* moss species acetone extracts against on *Saccharomyces cerevisiae* ATCC reference yeast and the lowest inhibition zone *Platyhypnidium riparioides* moss species ethyl alcohol extracts with 6,3mm zone diameter against on *Saccharomyces cerevisiae* ATCC reference yeast have been identified. MIC studies with the highest concentrations were detected in 14% and the lowest concentrations were detected 7%.

Key words: Moss, Pleurocarpic, antimicrobial activity, MIC

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında maddi manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim, bilgi ve tecrübeleriyle yolumu aydınlatan, saygıdeğer danışmanlarım Yrd. Doç. Dr. Recep KARA ve Doç. Dr. Gökçen YUVALI ÇELİK'e sonsuz teşekkürler. Ayrıca gerek literatür gerekse materyal araştırmalarımnda desteğini esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tülay EZER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olduklarını kuşkusuz bildiğim, benimle ağlayıp benimle gülen, bana yol gösteren, eğitim ve öğretim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini yanımda hissettiğim, adlarını hep minnetle anacağım çok kıymetli babam Temel ÇOLAK ve annem Memduha ÇOLAK' a, en sıkıntılı anlarımda bana destek olan, hayatıma neşe katan biricik kardeşim Damla ÇOLAK' a sonsuz teşekkürler.

Yalnızca laboratuvar arkadaşı olmayıp, tez aşamasında çok büyük desteğini gördüğüm, canımın en sıkın olduğu anlarda varlığını esirgemeyen, çalışmalarımnda yardımlarıyla her zaman yanımda olan canım arkadaşım Büşra ELİBOL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Her anımda yanımda olan, desteğini, fedakârlığını esirgemeyen, üzüntümü sevincimi benimle paylaşan, en umutsuz anlarımda bana umut olan sevgili nişanlım Zafer AYDINLIK'a çok teşekkür ederim.

Ayrıca desteğiyle yanımda olan yüksek lisans öğrencisi arkadaşlarım Mustafa CAYVAZ ve Hıdır AKINCI'ya, mesafelere rağmen varlıklarını hissettiğim Özlem VATAN ve Hatice BEKÇİ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
SUMMARY	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ	xii
KISALTMA VE SİMGELER	xiii
BÖLÜM I. GİRİŞ	1
1.1 Karayosunlarının Genel Özellikleri	2
1.2 Pleurokarp Karayosunları.....	3
1.3 Karayosunlarının kullanım alanları.....	4
1.3.1 Karayosunlarının indikatör ve biyomonitör olarak kullanılması.....	4
1.3.2 Tıbbi amaçlı kullanımları	5
1.4 Karayosunlarında antimikrobiyal aktiviteye neden olan metabolitler.....	7
BÖLÜM II MATERYAL METOD.....	9
2.1 Materyal	9
2.1.1 Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri.....	9
2.1.1.1 <i>Escherichia coli</i>	9
2.1.1.2 <i>Bacillus cereus</i>	9
2.1.1.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	10
2.1.1.4 <i>Salmonella</i>	10
2.1.1.5 <i>Bacillus subtilis</i>	11
2.1.1.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.1.1.7 <i>Candida albicans</i>	12

2.1.1.8 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
2.1.2 Çalışmada kullanılan karayosunları.....	12
2.1.3 Çalışmada kullanılan çözücüler	13
2.1.4 Mikroorganizmalar için kullanılan katı ve sıvı besiyerleri.....	13
2.1.5 Özütlein emdirilmesi için kullanılan diskler.....	13
2.2 Metod.....	13
2.2.1 Karayosunu örneklerinin hazırlanması.....	13
2.2.2 Özütlein elde edilmesi.....	14
2.2.3 Mac Farland yöntemi ile bakterilerin standardize edilmesi.....	14
2.2.4 Disk difüzyon yöntemi.....	14
2.2.5 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK) incelenmesi.....	15
2.2.6 Referans antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkileri.....	15
BÖLÜM III BULGULAR	17
3.1 Örnek karayosunlarının antimikrobiyal aktiviteleri	17
3.1.1 <i>Platyhypnidium riparioides</i>	17
3.1.2 <i>Leucodon sciuroides</i>	21
3.1.3 <i>Hypnum cupressiforme</i>	25
3.1.4 <i>Homalothecium sericum</i>	29
3.1.5 <i>Anamodon viticulis</i>	33
3.2 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIK) uygulandığı özütle ve sonuçları	37
3.2.1 <i>Platyhypnidium riparioides</i>	37
3.2.2 <i>Leucodon sciuroides</i>	38
3.2.3 <i>Hypnum cupressiforme</i>	39
3.2.4 <i>Homalothecium sericum</i>	40
3.2.5 <i>Anamodon viticulis</i>	42
3.3 Referans antibiyotiklerin test bakterileri üzerindeki inhibisyon etkileri	45

BÖLÜM IV TARTIŞMA SONUÇ	46
4.1 Örnek karayosunlarının incelenmesi	46
4.1.1 <i>Platyhypnidium riparioides</i>	46
4.1.2 <i>Leucodon sciuroides</i>	47
4.1.3 <i>Hypnum cupressiforme</i>	48
4.1.4 <i>Homalothecium sericium</i>	49
4.1.5 <i>Anamodon viticulosus</i>	50
4.2 Referans Mikroorganizmalar	51
4.3 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK).....	51
4.4 Referans Antibiyotiklerin Elde Edilen Özütlerle Mukayesesi	52
KAYNAKLAR.....	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

1.1 Karayosunlarının sekonder metabolitleri.....	8
1.2 Karayosunlarında bulunan terpenoidler ve sayısal dağılımları.....	8
1.3 Karayosunlarında bulunan aromatik bileşikler	8
3.1 <i>Platyhypnidium riparioides</i> test mikroorganizmalarına olan etkisi.....	17
3.2 <i>Leucodon sciuroides</i> test mikroorganizmalarına olan etkisi.....	21
3.3 <i>Hypnum cupressiforme</i> test mikroorganizmalarına olan etkisi.....	25
3.4 <i>Homalothecium sericium</i> test mikroorganizmalarına olan etkisi.....	29
3.5 <i>Anamodon viticulosus</i> test mikroorganizmalarına olan etkisi.....	33
3.6 <i>Platyhypnidium riparioides</i> karayosunu türünün metil alkol özütünün <i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.....	37
3.7 <i>Leucodon sciuroides</i> karayosunu türünün metil alkol özütünün referans <i>S.cerevisiae</i> ATCC mayası üzerindeki MİK değeri.....	38
3.8 <i>Hypnum cupressiforme</i> karayosunu türünün kloroform özütünün <i>B.cereus</i> 863 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.....	39
3.9 <i>Homalothecium sericium</i> karayosunu türünün kloroform özütünün <i>E.coli</i> ATCC 35218 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.....	40
3.10 <i>Homalothecium sericium</i> karayosunu türünün aseton özütünün <i>P.aeruginosa</i> ATCC referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.....	40
3.11 <i>Anamodon viticulosus</i> karayosunu türünün metil alkol özütünün referans <i>S.cerevisiae</i> ATCC mayası üzerindeki MİK değeri.....	42
3.12 <i>Anamodon viticulosus</i> karayosunu türünün etil alkol özütünün referans <i>S.cerevisiae</i> ATCC mayası üzerindeki MİK değeri.....	42

3.13 <i>Anamodon viticulis</i> karayosunu türünün kloroform özütünün referans <i>S.cerevisiae</i> ATCC mayası üzerindeki MİK değeri.....	42
3.14 <i>Anamodon viticulis</i> karayosunu türünün aseton özütünün referans <i>S.cerevisiae</i> ATCC mayası üzerindeki MİK değeri.....	42
3.15 Referans antibiyotiklerin test mikroorganizmaların üzerindeki etkisi.....	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

3.1 <i>Platyhypnidium riparioides</i> kloroform özütünün antimikrobiyal etkisi.....	18
3.2 <i>Platyhypnidium riparioides</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	18
3.3 <i>Platyhypnidium riparioides</i> metil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	19
3.4 <i>Platyhypnidium riparioides</i> aseton özütünün antimikrobiyal etkisi.....	19
3.5 <i>Leucodon sciuroide s</i> kloroform özütünün antimikrobiyal etkisi.....	22
3.6 <i>Leucodon sciuroides</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	22
3.7 <i>Leucodon sciuroides</i> metil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	23
3.8 <i>Leucodon sciuroides</i> aseton özütünün antimikrobiyal etkisi.....	23
3.9 <i>Hypnum cupressiforme</i> kloroform özütünün antimikrobiyal etkisi.....	26
3.10 <i>Hypnum cupressiforme</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	26
3.11 <i>Hypnum cupressiforme</i> metil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	27
3.12 <i>Hypnum cupressiforme</i> aseton özütünün antimikrobiyal etkisi.....	27
3.13 <i>Homalothecium sericium</i> kloroform özütünün antimikrobiyal etkisi.....	30
3.14 <i>Homalothecium sericium</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	30
3.15 <i>Homalothecium sericium</i> metil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	31
3.16 <i>Homalothecium sericium</i> aseton özütünün antimikrobiyal etkisi.....	31
3.17 <i>Anamodon viticulus</i> kloroform özütünün antimikrobiyal etkisi.....	34
3.18 <i>Anamodon viticulus</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	34
3.19 <i>Anamodon viticulus</i> etil alkol özütünün antimikrobiyal etkisi.....	35
3.20 <i>Anamodon viticulus</i> aseton özütünün antimikrobiyal etkisi.....	35

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

1.1 Pleurokarp yapısındaki <i>Hypnum cupressiforme</i>	4
3.1 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>Salmonella sp.</i> üzerine etkisi.....	20
3.2 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki etkisi.....	20
3.3 Aseton ve etil alkol özütünün <i>Saccharomyces cerevisiae</i> üzerindeki etkisi.....	24
3.4 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>E.coli</i> üzerindeki etkisi.....	24
3.5 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>S.cerevisiae</i> üzerindeki etkisi.....	28
3.6 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>B.cereus</i> üzerindeki etkisi.....	28
3.7 Aseton ve etil alkol özütünün <i>E.coli</i> üzerindeki etkisi.....	32
3.8 Kloroform ve metil alkol özütünün <i>E.coli</i> üzerindeki etkisi.....	32
3.9 Aseton ve etil alkol özütünün <i>S.cerevisiae</i> ATCC üzerindeki etkisi.....	36
3.10 Kloroform ve metil alkol özütlerinin <i>E.coli</i> üzerindeki etkisi.....	36
3.11 %7 ve %14 konsantrasyonlarında üreme.....	37
3.12 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında üreme.....	38
3.13 %7 ve %14 konsantrasyonlarında üreme.....	39
3.14 %7 ve %14 aseton özütü konsantrasyonlarında <i>P.aeruginosa</i> referans bakterisinde üreme.....	41
3.15 %7 ve %14 kloroform özütü konsantrasyonlarında <i>E.coli</i> referans bakterisinde üreme.....	41
3.16 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında metil alkol özütünde üreme.....	43
3.17 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında etil alkol özütünde üreme.....	43
3.18 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında kloroform özütünde üreme.....	44
3.19 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında aseton özütünde üreme.....	44

KISALTMA VE SİMGELER DİZİNİ

KISALTMA/SİMGE

MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
ATCC	American Type Culture Collection
RSKK	Refik Saydam National Type Culture Collections
Koag	Koagülasyon
DMSO	Di metil sülfö oksit
No	Numara
pH	Power of Hydrogen
rpm	Revolution Per Minute
%	Yüzde
°C	Derece Celsius
g	Gram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µm	Mikrometre
µl	Mikrolitre
sp	Species
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
SDA	Sabouraud Dextrose Agar
SDB	Sabouraud Dextrose Broth
M.O	Mikroorganizma
Al	Aliminyum
As	Arsenik
B	Bor
Ba	Baryum
Cr	Krom
Fe	Demir
Mn	Mangan
Ni	Nikel
S	Kükürt
Ti	Titanyum

Ca	Kalsiyum
Mg	Magnezyum
K	Potasyum
Na	Sodyum
BaCl ₂	Baryum klorit
H ₂ O	Su
N	Azot
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
v/v	hacim/hacim

BÖLÜM I

GİRİŞ

Günümüzde bilim ve teknolojideki büyük ilerlemelere rağmen doğal kaynakların bilinçsizce tüketimi ve karşılaşılan ekonomik güçlükler, doğal kaynakların çok amaçlı kullanımlarını zorunlu kılmıştır. Diğer taraftan enfeksiyöz hastalıklarla mücadelede bugüne kadar geliştirilen doğal ve sentetik antibiyotiklerin mikroorganizmaların direnç kazanmaları sonucu etkisiz kalmaları ve çeşitli yan etkilerinin bulunması bilim insanlarını yeni ve değişik antimikrobiyal maddeler keşfetmek için doğaya yöneltmiştir. Buna bağlı olarak da günümüzde çeşitli hastalıkların tedavisinde bitkilerden elde edilen doğal kaynaklı drogların kullanımı da ciddi ölçüde artmıştır [1] .

Bitkilerin bakteri ve funguslara karşı inhibisyon etki gösteren bazı kimyasal maddeler ürettikleri bilinmektedir. Bilinen en eski kara bitkileri biryofitlerden oluşmaktadır [2]. Biryofitlerin tedavi amaçlı Çin, Avrupa ve Kuzey Amerika'da kullanımı bilinmektedir [3]. Ayrıca *Atrichum*, *Dicranum*, *Mnium*, *Polytrichum* ve *Sphagnum* gibi bazı karayosunu cinslerinin antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir [4]. Aynı zamanda bazı biryofit ekstraktlarının da antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteye sahip oldukları rapor edilmiştir [5]. Dülger ve ark. (2009) bazı karayosunu özütleriyle yaptıkları çalışmada antibakteriyel etkinin antifungal etkiden daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir [6].

Bu gelişmelere paralel olarak halk arasında tedavi edici özellikleri yüz yıldır bilinen ve mikrop öldürücü olarak kullanılan biryofitlerin antimikrobiyal etkisini araştırmayı tezimizin konusu olarak seçtik.

Çalışmada beş farklı pleurokarpik karayosunu türünün patojenik olduğu bilinen referans mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki araştırılmıştır.

1.1 Karayosunlarının Genel Özellikleri

Biryobiyotina alt alemi içerisinde yaklaşık 12.000 tür ile temsil edilen Bryophyta (=Gerçek Karayosunları) bölümü dünyadaki bütün iklim ve coğrafyaları kapsayan geniş bir yayılım göstermektedir [7].

Genellikle karasal olarak kabul edilmelerine rağmen, tamamı suya gömülü türleri de mevcuttur [8]. Karayosunlarının büyük bir kısmı rutubetli yerlerde yaşamayı tercih ederler. Birçoğu uzun zaman kuraklıktan etkilenmeden yaşayabilir [9]. Karayosunları genelde kendi içsel su kontrol mekanizmalarına sahip değildir ve buna bağlı olarak su düzeylerini genelde ortam koşulları belirler yani poikilohidrik organizmalardır. Bunun yanı sıra çok az bir kısmında endohidrik özellik görülür. Gerçek kök, yaprak ve gövdeye sahip olmadıkları için suyu tüm bünyeleri ile alıp verirler. Suyun sınırlı olduğu durumlarda uyku durumu olarak adlandırılabilen bir pozisyona girerler ve suyun tekrar yeterli miktara ulaşınca birkaç saat içinde normal yaşamsal faaliyetlerine dönerler [10]. Bunun yanı sıra kuru ağırlıklarını ortalama 12 katı kadar suyu bünyelerinde barındırırlar. Böylece buldukları zeminin nemli kalmasını sağlayarak diğer bitkilerde çimlenmeyi kolaylaştırarak orman ekosistemlerine katkıda bulunurlar [11]. Bulundukları minerallerin sayesinde böcekler için barınak ve yumurtlama için ortam oluştururlar [11].

Karayosunları orman gibi ekosistemlerin temel üyelerindedir zira sıcak ve soğuk gibi aşırı şartlara oldukça dayanıklıdırlar [11].

Barındıkları ortamın en ufak değişikliklerine dahi duyarlılık gösterdikleri için indikatör olarak kullanılmaktadırlar ve bu nedenle 'kilit organizma' olarak nitelendirilmektedirler [10]. Ayrıca orman yangınlarından sonra ekosistemde öncü türler olarak ortaya çıkan karayosunları yangının etkilerini tedavi edici bitki grubu olarak nitelendirilebilmektedir. Bunlara örnek olarak *Funaria hygrometrica* Hedw. ve *Ceratodon purpureus* (Hedw.) Brid türleri verilebilir [11].

1.2 Pleurokarp Karayosunları

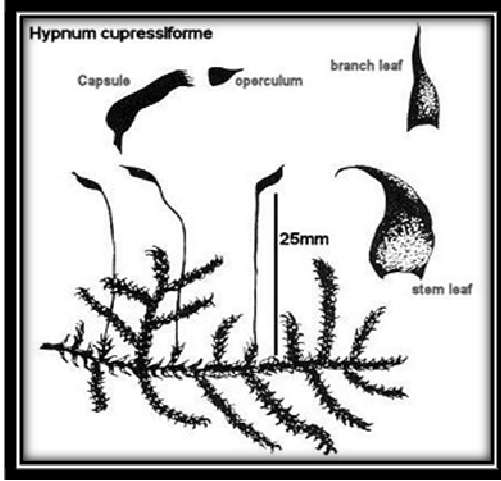
Karayosunları, morfolojik olarak ikiye ayrılırlar. Pleurokarpik ve akrokarpik olarak adlandırılan bu iki terim ilk olarak Bridel (1826) tarafından kullanılmış, Schimper (1860) tarafından sistematik açıdan değerlendirilmiş ve ana sistematik karakterlerini göstermek amacıyla kullanılmıştır [12]. Akrokarp karayosunları substratuma dik olarak büyürler, çoğunlukla dallanma görülmez ya da çok az görülür. Ayrıca sporofitleri gametofitlerinin terminalindedir [13].

İkinci gruptaki karayosunları pleurokarplar olarak adlandırılırlar. Bunların gametofitleri akrokarpın aksine, substrata paralel büyüyerek yığınlar oluştururlar. Sporofitleri gametofitlerine dik olarak çıkan pleurokarp karayosunları, substrata (tutunulan nesne) paralel bir halı örtüsü oluşturur ve kurutucu etkenlerden uzak alanlarda yayılırlar [10,13].

Genellikle nemli habitatlarda yayılış göstermeleriyle akrokarplardan ayrılan pleurokarp karayosunları dünyada var olan karayosunları türlerinin yaklaşık olarak % 42'sini oluşturmaktadır. Moleküler verilerin filogenetik analizlerine göre pleurokarplar jeolojik olarak yakın zaman periodlarında çeşitlenmişlerdir [14].

Pleurokarp karayosunlarında, kapsüllerin dalların yanında büyüdüğü görülebilir. Bu karayosunları kimliklerini ön plana taşıyan gövde ve dallara sahiplerdir. Genelde sürünen dallara rastlanılmaktadır [15].

Sistematik açıdan pleurokarplar; leptoid ve hidorid bulundurmamaları, yaprak laminasının tek tabakalı, hücrelerinin uzamış (vermicular, fusiform), papilla var ise basit ve alar bölgesinin belirgin olması ile akrokarplardan kolaylıkla ayrılırlar.



Fotoğraf 1.1 Pleurokarp yapısındaki *Hypnum cupressiforme* [15]

1.3 Karayosunlarının Kullanım Alanları

Karayosunları, birçok farklı özelliğe sahiptir, bu özelliklere dayanarak farklı alanlarda uzun zamandan beri kullanılabilmektedirler [11].

Erozyon kontrol amaçlı, toprağı azotça zenginleştirme, kirleticileri temizleme amaçlı, bahçecilik ve tarımda, hayvancılıkta, yakıt olarak, kozmetik sektöründe kullanımları mevcuttur [16]. Çalışmamıza yol gösteren ve ilgili olan kullanım alanları, indikatör, biyomonitör olarak ve tıbbi amaçlı kullanılmasıdır.

1.3.1 Karayosunlarının indikatör ve biyomonitör olarak kullanılması

Karayosunları çevresel koşulların belirlenmesin kullanılan çok verimli bir indikatördür. Bu özelliği ilk olarak 1929 ve 1932 yıllarında A.H Brinkman ve P.W. Richards tarafından tespit edilmiştir [16].

Toprağın mineral durumunun belirlenmesi bilhassa metal parametrelerinin tespit edilmesinde de karayosunları kullanılmaktadır. *Mielichhoferi elongata* (Hoppe & Hornsch. ex Hook.) Hornsch, *Mielichhoferia mielichhoferi* Wijk & Margad., nom. inval. gibi bakırın olduğu topraklarda daha iyi gelişen türler bu amaçla kullanılmıştır [16].

Genoni ve arkadaşları, İtalya'da yaptıkları çalışmada petrol yakıtlı termik santralinin etrafındaki metal konsantrasyonunu incelemek amacıyla *Hypnum cupressiforme* Hedw.,

türünü temel almışlardır. Sonuç olarak metal konsantrasyonunun santral bacası etrafında yüksek çıkarken bacadan uzaklaştıkça konsantrasyonun azaldığı görülmektedir. Fernandez ve arkadaşları *Hypnum cupressiforme*'nin absorbe ettiği ağır metalin *Scleropodium purum* (Hedw.) Limpr. türünün absorbe ettiği metalden daha yüksek konsantrasyona sahip olduğunu tayin etmişlerdir. Bargagli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada biyomonitör olarak nitelendirilen *Hypnum cupressiforme* (karayosunu) ve *Parmelia caperata*'da (epifitik liken) türlerinin element konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Aynı alanda yapılan bu çalışmada Al, As, B, Ba, Cr, Fe, Mn, Ni, S ve Ti değerlerinin *Hypnum cupressiforme* türünde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. İtalya da yapılan bu çalışmada bunu doğrular nitelikte atmosfer kirliliğini bünyesinde daha fazla miktarda belirlenmiştir [17].

Bunların yanı sıra toprağın temel bileşeni olan Ca, Mg, K ve Na, azot, demir oranlarının belirlenmesinde de karayosunları kullanılmaktadır. Ayrıca atmosfer ve suyun kirliliğinin ve kalitesinin saptanmasında da indikatör olarak karayosunları kullanılmaktadır [16].

1.3.2 Tıbbi amaçlı kullanımları

Bitkilerden elde edilen ikinci metabolitler uzun zamandan beri ilaç olarak kullanılmaktadır ve bu doğal ürünlere talep gün geçtikçe artmaktadır. İnsanlar, yüksek bitkilerden elde edilen maddeleri geniş alanlarda değerlendirmelerine rağmen karayosunundan elde maddeler yüksek bitkiler kadar ilgi görmemiştir [18]. Buna karşın bryofitler medikal bitki olarak Çin, Avrupa, Kuzey Amerika'da kullanıldıkları kayıtlarda mevcuttur [19].

Çin'de 400 yıldan daha fazla süredir bazı *Fissidens* ve *Polytrichum* türleri diüretik, saç büyümesine uyarıcı olarak kullanılmaktadır [19]. Ayrıca Çin'de geleneksel olarak yaklaşık 40 çeşit Biryofit kardiovasküler sistem, bademcik iltihabı, bronşit, orta kulak iltihabı idrar yolu enfeksiyonları, deri hastalıkları ve yanıklar için ilaç olarak kullanılmaktadır [6]. Kuzey Amerika Kızılderilileri *Bryum*, *Mnium*, *Philonotis spp.* ve *Polytrichum juniperinum* türlerini yanıkların, eziklerin, yaraların tedavilerinde, Fransa'da ise *Marchantia polymorpha* türleri idrar söktürücü olarak kullanılmaktadır

[19]. Himalaya bölgelerinde yosunların külleri yağ ve balla karıştırılarak merhem olarak yanıklara ve yaralara sürülmektedir [6].

Plagiochila fasciculata P388 hücrelerine (lösemi) *Herpes simplex* tip 1 (uçuk) ve polio tip 1 (çocuk felci) hastalıklarına karşı inhibitör etki göstermektedir [3]. *Polytrichum juniperinum* Hedw. türünün alkol ya da asit ekstralarının sarkom 37 nin CAF faresinin kasına enjekte edilmesinden kaynaklanan karsinoma hastalığına karşı antitümoral aktivite gösterdiği kaydedilmiştir [20].

Ayrıca, birçok gelişmiş ülkelerde yaklaşık %80 oranında terapötik, iyileştirme özelliği olan bitkilerden sağlanmıştır. Bulaşıcı hastalıkların büyük çoğunluğunun mikrobiyolojik kaynaklı olduğu ve bakteri direncinin ortaya çıkmasıyla birlikte doğal antimikrobiyal terapötiklerin evrensel talebinde bir artış gözlenmiştir [3].

Biryofitlerin bilinen antifungal bileşikleri terpenlere, bibenzillere, bisbibenzillere, yağ asiti türevlerine ve assetofenonlara bağlıyken [21], basit toprak bitkisi olan karayosunların ekstratlarında bulunan isoflavonoid, flavanoid ve bioflavanoid mikroorganizmalara karşı kimyasal bariyer olarak kaydedilmiştir. Ayrıca bazı biryofitlerde terpenoid, fenolik ve uçucu bileşenlerde incelenmiştir [22].

Richardson (1981) belirttiği gibi birçok karayosunu türünün çürümesinde bakterilerin önemli bir rol oynamadığı bilinmektedir. Bunun nedeni, karayosunlarının üretmiş olduğu antibiyotiktir [11].

Yapılan çalışmalarda, *Sphagnum* gibi bazı karayosunu türlerinin antibiyotik etkisi patojenlere karşı yüksek çıkarken, *Funaria hygrometrica* Hedw. gibi bazı türlerin patojen mikroorganizmalara karşı herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir. Çalışmalarda saptanan bu farklılıkların türlerin yaşadığı habitatla ilgili olduğu düşünülmektedir. *Funaria hygrometrica* türü, orman yangınları sonrasında istilacı tür olarak yayıldığı için rekabet edecek canlı türü az olduğu için antimikrobiyal nitelikte madde üretmediği düşünülmektedir [11]. Aynı zamanda Altuner (2008) yaptığı çalışmada ekstraksiyon sırasında kullanılan çözücü ve karayosunu türlerinin toplandığı lokasyonun karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini etkilediğini tespit etmiştir [11].

Conocephalum conicum, *Mnium undulatum*, ve *Leptodictyum riparium* Hedw. türlerinin özütlerinin patojenik bakteri türlerine karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca, *Atrichum*, *Dicranum*, *Mnium*, *Polytrichum* ve *Sphagnum* cinslerinin aktif antibiyotik maddeleri polifenolik bileşik olarak tespit edilmiş, Marchantin A, siklopentanol, yağ asitleri ve bunların ön maddelerinin antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir [20].

1.4 Karayosunlarında Antimikrobiyal Aktiviteye Neden Olan Metabolitler

Sekonder metabolitler bitkinin temel faaliyetlerini doğrudan etkilemeyen fakat temel olan bu faaliyetlerle doğrudan ilişkili olan primer metabolitler kadar yaşamsal öneme sahip bileşiklerdir [23]. Bu maddelerin bitkideki önemli görevleri şunlardır;

1-Kuraklık, tuzluluk, UV ışınları vs. gibi değişik çevre faktörlerinin oluşturduğu stres ortamına karşı koyma.

2-Herbivorlara (böcek, sürüngen vb.) karşı savunma.

3-Mikroorganizmalara (bakteri, mantar vb.) karşı savunma.

4-Bazı metabolik ve daha gelişmiş ekolojik işlevler [24].

Sekonder metabolitler, primer metabolitlerden biyosentetik yolla üretilmiş olup bitkiler alemindeki dağılışı özel olan bir taksonomik grup (tür, cins, familya) ile sınırlandırılmıştır [25]

Çizelge 1.1 Karayosunlarının sekonder metabolitleri [26].

Bileşik Sınıfları	Karayosunları
Terpenoidler	+
Aromatik bileşikler	++
Nitrogen içeren bileşikler	(+)
Sülfür içeren bileşikler	-
Klor içeren bileşikler	-

Not: ++>100 bileşik; + 10–100 bileşik; (+) <10 bileşik

Çizelge 1.2 Karayosunlarında bulunan terpenoidler ve sayısal dağılımları [26].

Terpenoid Sınıfları	Karayosunları
Monoterpenler	3
Sesquiterpenler	9
Diterpenler	4
Triterpenler	25
Steroidler	10
Tetraterpenler	28
Politerpenler	+

Çizelge 1.3 Karayosunlarında bulunan aromatik bileşikler [26].

Bileşik Sınıfları	Karayosunları
Benzoik ve sinnamik asit türevleri	+
Fenoleter, alkilfenol, fenilglikozit	-
Bibenzil, bisbibenzil, bisbibenzil dimerleri, stiben ve ilişkili bileşikler	(+)
Fenantrenler	-
Naftalinler	-
Asetofenonlar	-
Lignanlar	-
Flavonoidler	++
Kumarinler, izokumarinler, kumestan	+
Benzonaftoksantenon	(+)

Not: ++>100 bileşik; + 10–100 bileşik; (+) <10 bileşik

BÖLÜM II

MATERYAL METOD

2.1 Materyal

2.1.1 Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar ve özellikleri

2.1.1.1 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasına ait olan *E.coli*, *Escherichia* cinsinin en önemli türüdür. Gram negatif olan bu tür, bazen hareketli, fakültatif anaerop olup 1–2 mm çapında S tipi koloniler yapan bakterilerdir [27]. Bakteri çubuk şeklinde olup, boyutları 1–2 µm uzunluğunda ve 0,1–0,5 µm çapındadır [28]. Endosporsuz olan *E.coli* karbon kaynağı olarak glikozu kullanırlar. Katalaz testine pozitif, oksidaz testine negatif sonuç verirler [27].

Bağırsak florası içinde yer alan bu bakteri canlılığının savunma gücünün azaldığı durumlarda doku ve kana yayılarak enfeksiyon yapma özelliğindedirler [27]. Aynı zamanda bulunduğu organizmanın başka bir organına geçmesiyle de hastalık etmeni olabilir. Yaptığı başlıca hastalıkları, ishalleri hastalıklar başta olmak üzere idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, peritonit, mastit ve septisemidir [28].

Deneylerde *E.coli* ATCC 35218 referans bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.2 *Bacillus cereus*

Bacillaceae familyasına *Bacillus* cinsine ait olan *Bacillus cereus* Gram pozitif, aerobik ve spor oluşturan bir bakteridir. Hücre şekli büyük çubuktur [30,31]. 1 – 1,2 µm ile 3,0 – 5,0 µm arasında hücre boyutuna sahip olan bu bakterinin optimum gelişme sıcaklığı genellikle 30 C° 'dir [30].

Toprak kökenli olması tarla ve bahçe ürünlerinden konakçı organizmalar geçmesinde önemli rol oynar. Ayrıca sporları sayesinde et ve süt ürünlerinde de bakterinin mevcut

olmasına neden olmaktadır. *B.cereus* çok sayıda bulunduğu takdirde gıda zehirlenmesine yol açar [31].

İki farklı tipte hastalığa neden olan *B.cereus* zehirlenme aracı olarak pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları, sebze yemeklerini kullanabilir. Birinci tip hastalık akut başlayan kusma tipi sendromken ikinci tip hastalık uzun sürede gelişen diyare tipi sendrom olarak bilinmektedir [30]

Deneylerde *B. cereus* 863 referans bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.3 *Staphylococcus aureus*

S.aureus morfolojik olarak incelendiğinde kısa zincirli ve üzüm gibi salkım halindedir. Kok şeklinde ve Gram pozitif olan *S.aureus* mikroorganizmasının bazı suşları insanlarda hastalığa neden olan yüksek ısıya direnç gösteren protein toksinleri üretme eğilimindedirler [32].

Bu mikroorganizmalar deri ve mukozal yüzeylerin florasında normal olarak bulunmaktadır. Erişkinlerin yaklaşık %15 'i devamlı olarak taşıyıcıdır [33]. Bu bakteri kuru yüzeylerde barınarak geçirgenliği arttırarak yaralarda enfeksiyona yol açabilir. Herhangi bir *S. aureus* enfeksiyonu stafiokokal haşlanmış cilt sendromuna yol açabilir. Bu durum ise derinin kana karışan ekzotoksine verdiği reaksiyon ile oluşur. Ayrıca piyemi diye adlandırılan bir çeşit septisemiye de yol açabilir [34].

Deneylerde *S. aureus* Koag (+) referans bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.4 *Salmonella*

Salmonella fakültatif anaerob olup Enterobacteriaceae familyasının üyesidir. Gram negatif ve çubuk şeklinde olan *Salmonella* genelde hareketlidir. *Salmonella* cinsi hem hayvanlarda hem de insanlarda patojen olan birçok türe sahiptir. *Salomella*'ların yol açtığı neden olduğu gastroenterit bazen ölümle sonuçlanabilir. Mikrobiyal gıda zehirlenmeleri içerisinde Salmonellosis dünyada en sık rastlanılan zehirlenme çeşididir [35]. Aynı zamanda *Salmonella* tifo, paratifo hastalıklarına da yol açmaktadır [36].

Deneylerde *Salmonella sp.* referans bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.5 *Bacillus subtilis*

Doğada sporlarına çok sık rastlanmaktadır. Bu bakteri toprak, toz, gübre, bitki ve hayvanlarda bulunabilir. 1,5–3 µm boyunda ve yaklaşık 0,5–0,8 µm eninde olan bu bakteriler Gram pozitifdir ve aseptikler. Ara ara zincir yapan çomak şeklinde hücrelerdir. Aslında saprofit olan bu bakteri, direk doku ve bilhassa göz içine girmesi neticesinde panoftalmi, iridosiklit ve göz yangıları meydana getirebilmektedir. [37] Ekmeğin yapısını bozma ve sütte kazeini parçalayarak zehirlenmeye yol açabilmektedirler [38].

Deneylerde *B.subtilis* RSKK 244 referans test bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.6 *Pseudomonas aeruginosa*

Genelde toprak ve sudan izole edilebilen bakterilerdir. Gram negatif, aerobik hareket edebilen çubuk şeklinde bakterilerdir. Genellikle tek hücre olmalarına rağmen ara sıra birkaç hücrenin birleşerek kısa zincirler oluşturduğu görülmektedir. İnsanlarda patojendirler [39]. 1,5–3 µm uzunluğunda 0,5 µm enindedirler. Sporsuz, kapsülsüz, çomakçıklardır [37].

P.aeruginosa bilhassa bağışıklık sistemi zayıflamış hastalarda solunum ve idrar yollarında enfeksiyona neden olurken, yanıklar ve açık yaralar için fırsatçı patojen olarak nitelendirilmektedir. Bunun yanı sıra kanda da enfeksiyon yapabilmektedir [39]. Aynı zamanda hastane patojenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Antibiyotik çeşitliliğine direnç göstererek ölümlere ve hastalıklara neden olmaktadır. Hastane enfeksiyonlarının yaklaşık %10–25 oranında *P.aeruginosa* sebep gösterilmektedir [40].

Deneylerde *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisi kullanılmıştır.

2.1.1.7 *Candida albicans*

Candida albicans çoğalması eşeyli olan, diploit, maya tipi olarak nitelendirilen fırsatçı bir mantar türüdür. 200 tür içersinden %75 oranında enfeksiyonlara yol açan tür *C. albicans*'tır. Özellikle vajinal ve oral enfeksiyonlara yol açmaktadır. Bağışıklık sistemi hasara uğramış hastalarda ölüme neden olan başlıca nedenler arasında yer almaktadır [41].

Sindirim sistemindeki varlığı ile diğer patojenlerin varlığını baskılayan *C.albicans* bağışıklık sisteminin hasar görmesinden ya da üreme şartlarının fazlasıyla sağlanması durumunda fırsatçı olarak varlığını gösterir [41].

Deneylerde *C. albicans* ATCC 16231 referans mayası kullanılmıştır.

2.1.1.8 *Saccharomyces cerevisiae*

Bu maya türü tomurcuklanarak üremektedir. Günlük hayatta kullanılan çok önemli bir maya türü olmakla beraber *E. coli* gibi model organizma sayılabilir. *Saccharomyces cerevisiae*, kalın bağırsak iltihabına (kolit) neden olan *Clostridium difficile* bakterisinin biyolojik kontrolunda bir probiyotik katkı olarak kullanılır. Çok hasta insanlarda bu uygulamanın sistemik maya iltihabına yol açabileceği gözlemlenmiştir [42].

Deneylerde *S. cerevisiae* ATCC referans mayası kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan referans mikroorganizmalar Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

2.1.2 Çalışmada kullanılan karayosunları

Çalışmada antimikrobiyal aktivitesinin incelendiği karayosunların pleurokarp karayosunları olup, *Platyhypnidium riparioides* (Hedw.) Dixon, *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwägr. , *Hypnum cupressiforme*, *Homalothecium sericeum* (Hedw.) Schimp, *Anomodon viticulosus* (Hedw.) Hook & Taylor. türleridir [43] . Otör isimleri tür isimlerinin ilk geçtiği yerlerde verilmiştir.

2.1.3 Çalışmada kullanılan çözücüler

Çalışmada özütleri elde etmek için kloroform (Riedel-de Haën /24216), etil alkol (Riedel-de Haën /32221), metil alkol (Riedel-de Haën /24229) ve aseton (AK Kimya A.Ş, Tekkim A.Ş) kullanılmıştır. Ayrıca bu çözücülerden elde edilen tortuyu çözmek için DMSO kullanılmıştır.

2.1.4 Mikroorganizmalar için kullanılan katı ve sıvı besiyerleri

Referans bakterilerinin saklanması Nutrient Agar (LAB M) yatık besiyeri, referans mayaların saklanması ise Sabouraud Dextrose Agar (LAB M) yatık besiyeri kullanılmıştır. Saklama koşulu, soğutucuda 4 C° sıcaklıktadır. Referans bakterilerin aktifleştirilmesinde Mueller Hinton Broth (MHB) (LAB M) , referans mantarların aktifleştirilmesinde ise Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (LAB M) sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Ayrıca deneyler sırasında bakterilerin üretilmesinde Mueller Hinton agar (MHA) (LAB M), Mayaların üretilmesinde ise Sabouraud Dextrose agar (SDA) katı besiyerleri kullanılmıştır.

2.1.5 Özütlerin emdirilmesi için kullanılan diskler

Hazırlanan özütlerin emdirilmesi için Whatman No:1 marka, steril edilmiş boş diskler kullanılmıştır. Diskler 6mm çapındadır.

2.2 Metod

2.2.1 Karayosunu örneklerinin hazırlanması

Alınan karayosunu örnekleri toprak, çöp ve aradaki başka türlerden arındırıldı. Temizlenen örnekler ilk başta %0,8'lik Tween 80 ile bir süre muamele edildi (2-5 dakika arası). Daha sonra bol musluk suyuyla yıkandı. Yıkanan örnekler, distile su ile iyice yıkanarak süzüldü. Süzülen karayosunu örnekleri kurutma kağıdının üzerine serilerek iyice kurutuldu [19].

2.2.2 Özütlelerin elde edilmesi

Kuruyan karayosunu örnekleri öğütücü yardımıyla iyice parçalandı [15]. Gerek görüldüğü takdirde havanda iyice dövülerek mümkün olduğu kadar toz haline getirildi. Parçalanmış örneklerde her bir çözücü için 23 gr tartılarak üzerlerine 200 ml çözücüler eklendi. 30 dakikada bir vortekslenerek homojenize olması sağlanan örnekler 2 saat oda sıcaklığında bekletildi [18]. Bekletilen örnekler 4000 rpm de 5 dakika kadar santrifüj edilerek süpernatantı alındı. Alınan süpernatantlar 45 °C de bekletilerek çözücüler uçuruldu [19].

Çözücüler uçuktan sonra elde kalan tortuya DMSO eklendi [17]. DMSO tortu oranı her bir 0,1 gr tortu için 10 ml DMSO şeklinde ayarlandı.(10mg/ml). Hazırlanan ekstraktların sterilizasyonu 0,45 µm'lik tek kullanımlık mikrofiltre ile gerçekleştirildi.

2.2.3 Mac Farland yöntemi ile bakterilerin standardize edilmesi

Sıvı besiyerinde üreyen mikroorganizmaların, standardize edilmesi için Mac Farland yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntem her bir mikroorganizmanın aynı yoğunlukta üremesi içindir. Bu sayede deney daha güvenilir olmuştur [11].

Bu yöntem için 1 no'lu Mac Farland kullanılmıştır. A (% 1,175 BaCl₂ 2H₂O) ve B (0,36 N H₂SO₄'den % 1 (v/v) çözeltisi) çözeltileri 1'den 10'a kadar belli oranlarla karıştırılmış ve 10 adet Mac Farland çözeltisi hazırlanmıştır. A çözeltisi sırayla, 0,1-0,2-0,3-0,4-0,5-0,6-0,7-0,8-0,9 ve 1,0 oranlarındayken B çözeltisi 9,9-9,8-9,7-9,6-9,5-9,4-9,3-9,2-9,1 ve 9,0 şeklindedir. Sıvı besiyerindeki aktif kültürler steril pipetlerle, içlerinde 3 ml fizyolojik su bulunan tüplere damlatılarak 1 numaralı Mac Farland tüpündeki bulanıklıkla eşit bulanıklık yakalandı [49].

2.2.4 Disk difüzyon yöntemi

Disk difüzyon yöntemi uygulanmadan 24 saat önce stoklarda bulunan test bakterileri MHB besiyerinde, test mayaları ise SDB sıvı besiyerine aktararak aktifleştirildi. Bu besiyerleri daha önce 121 C° de 15 dakika steril edildi. Yine 121 C° de 15 dakika steril edilen katı besiyerleri (referans bakterileri için MHA, test mayaları için ise SDA) her bir

petriye 20 ml olmak üzere steril şartlarda döküldü. Aktifleştirilen mikroorganizmalar, her biri 100 µl olmak üzere petrilere aktarıldı. Aktarılan kültürler tüm petri yüzeyine, drigalski öze yardımıyla yayıldı (yüzeye yayma yöntemi). Homojen olarak yayılan kültüre 2 paralel olmak üzere diskler yerleştirildi. Yerleştirilen diskler üzerine 20 µl ekstrakt emdirildi. Her bir petriye iki özüt emdirilmiştir. Özütler paralel olarak test edilmiştir. Kültürler 24 saat 37,5 °C de inkübasyona bırakılmıştır. Özütlerin kültüre olan etkisi kumpas yardımıyla ölçülmüştür.

2.2.5 Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) incelenmesi

Çalışmanın Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MİK) National Committee for Clinical Laboratory Standartları tarafından önerilen prosedürlerden agar dilüsyon metodu ile uygulanmıştır. Mikroorganizmaların gelişimini inhibe eden antimikrobiyal ajanların en düşük konsantrasyonu MİK değeridir [45].

MİK çalışması için, inhibisyon zon çapı 8 mm zon çapından yüksek zonlar seçilmiştir. Test difüzyon yönteminde olduğu gibi mikroorganizmalar sıvı besiyerlerinde aktifleştirilmiştir. Daha sonra her bir mikroorganizma için 9 adet 20 ml besiyeri ayrı ayrı hazırlanmıştır. Bu besiyerine ek olarak %0,5 (v/v) olacak şekilde Tween 80 (Difco) eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri 121 C° de 15 dakika steril edilmiştir. Steril edilen besiyerlerinden sırayla % 0.05, % 0.1, %0.2, %0.4, % 0.8, % 1.75, % 3.5, % 7, %14 alınmış ve aynı oranlarda özütler besiyerlerine eklenmiştir. Homojen bir şekilde karıştırdıktan sonra besiyerleri petrilere dökülmüştür. Oda sıcaklığında bekletilerek donan besiyerlerine 10 µl aktif kültür paralel olarak eklenmiştir [45]. 24 saat inkübasyondan sonra MİK değeri tespit edilmiştir.

2.2.6 Referans antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkileri

Test mikroorganizmaları uygun sıvı besiyerlerinde, uygun sıcaklıkta aktifleştirilmiştir. Mikroorganizmalara göre steril edilmiş katı besiyerleri (referans bakterileri için MHA, test mayaları için ise SDA) her biri 20 ml olarak petrilere dökülmüş oda sıcaklığında donmaları beklenmiştir. Aktif olan kültürler 100 µl alınıp donan besiyerine damlatılmıştır, daha sonra drigalski öze ile tüm yüzeye homojenize olana kadar yayılmıştır. Bu kültürlerin üzerine referans antiniyotik diskler yerleştirilmiş. 37.5 C° de

24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra inhibisyon zon çapları kumpas yardımıyla ölçülmüştür.

BÖLÜM III

BULGULAR

3. 1 Örnek Karayosunlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri

3.1.1 *Platyhypnidium riparioides*

P. riparioides türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi metil alkol özütü 8,5 mm'lik zon çapıyla *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine karşı verirken, en düşük etkiyi 6,3 mm'lik zon çapıyla etil alkol özütü *S. cerevisiae* ATCC referans mayasına karşı vermiştir. *C. albicans* ATCC 16231 Referans mayasında hiçbir etki gözlemlenmemiştir.

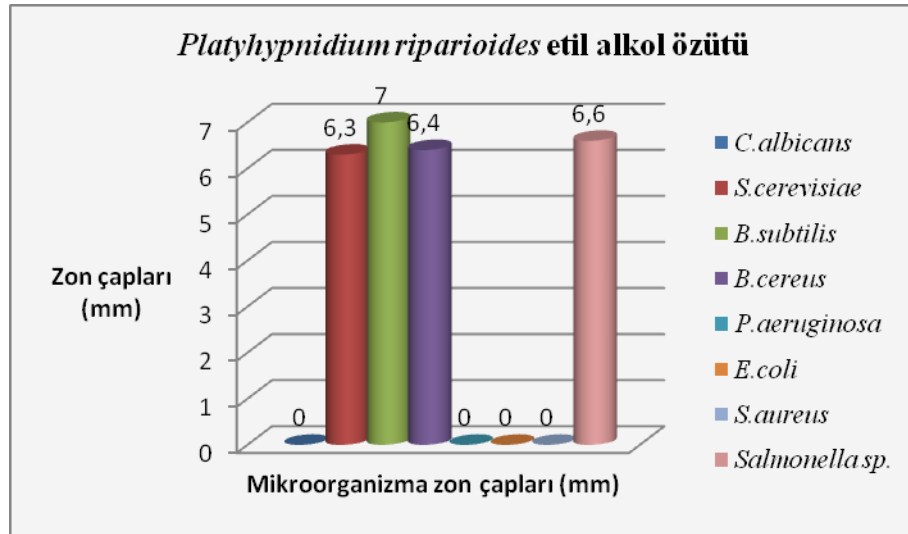
Çizelge 3.1 *Platyhypnidium riparioides* örneğinden elde edilen özütlerin test mikroorganizmalarına olan etkisi

Çözücü M.O	İnhibisyon zon çapları (mm)			
	Kloroform	Etil Alkol	Metil Alkol	Aseton
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	–	–	–	–
<i>S. cerevisiae</i> ATCC	6,55	6,3	7,2	–
<i>B. subtilis</i> RSKK 244	6,4	7,0	6,65	6,4
<i>B. cereus</i> 863	–	6,4	6,4	6,95
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	6,75	–	8,5	7,3
<i>E. coli</i> ATCC 35218	6,95	–	7,35	7,5
<i>S. aureus</i> Koag (+)	–	–	7,05	–
<i>Salmonella sp.</i>	6,95	6,6	7,95	7,5

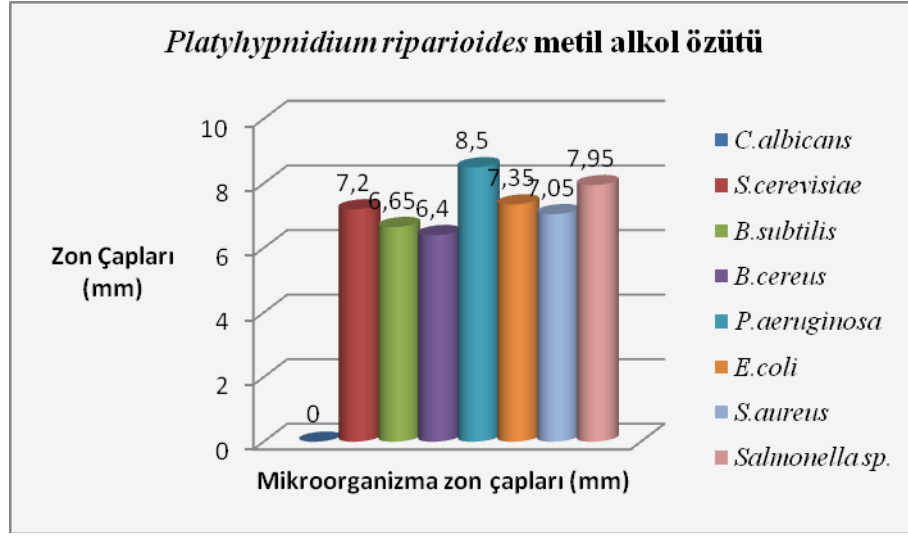
_ :İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir.



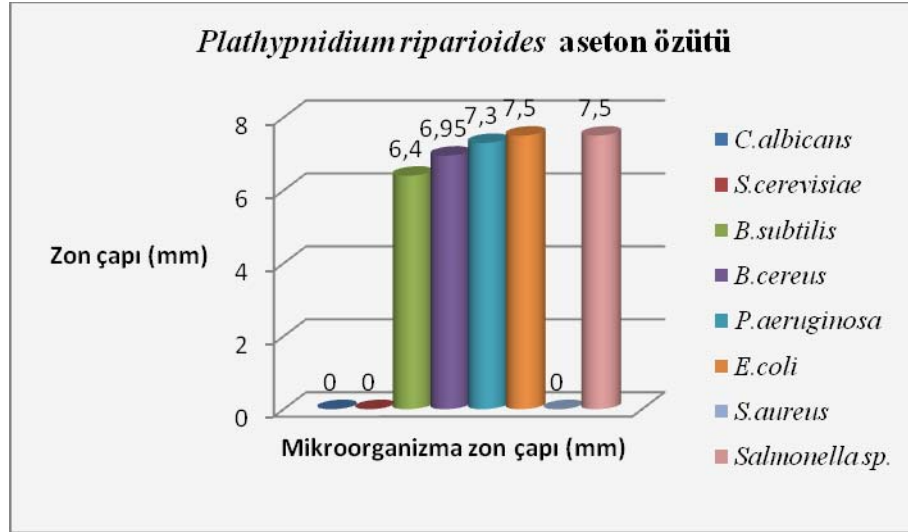
Şekil 3.1 *P. riparioides* kloroform özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.2 *P. riparioides* etil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.3 *P. riparioides* metil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.4 *P. riparioides* aseton özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Fotoğraf 3.1 Kloroform ve metil alkol özütünün *Salmonella* sp. üzerine etkisi



Fotoğraf 3.2 Kloroform ve metil alkol özütünün *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi

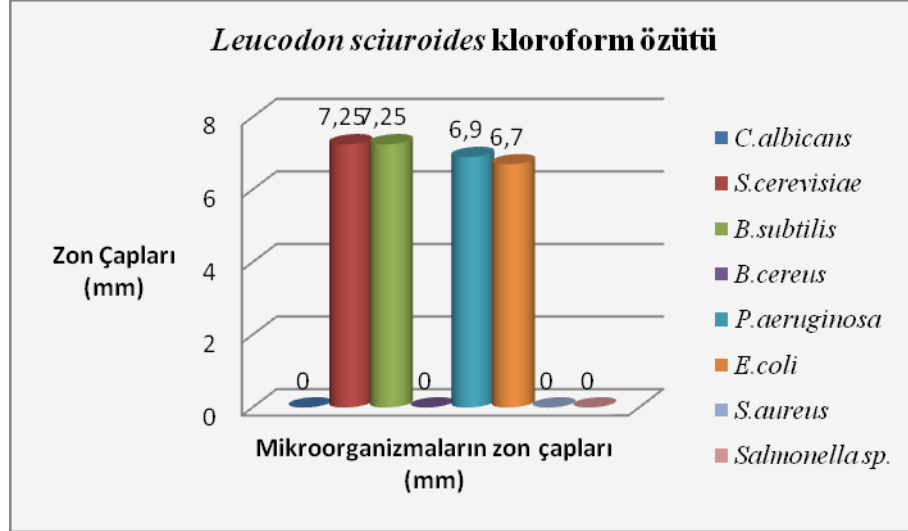
3.1.2 *Leucodon sciuroides*

L. sciuroides türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi metil alkol özütü 9,1 mm'lik zon çapıyla *S. cerevisiae* ATCC test mayasına karşı verirken, en düşük etkiyi 6,45 mm'lik zon çapıyla etil alkol özütü *C. albicans* ATCC 16231 referans mayasına karşı vermiştir. *B.cereus* 863 referans bakterisine hiçbir etki gözlemlenmemiştir.

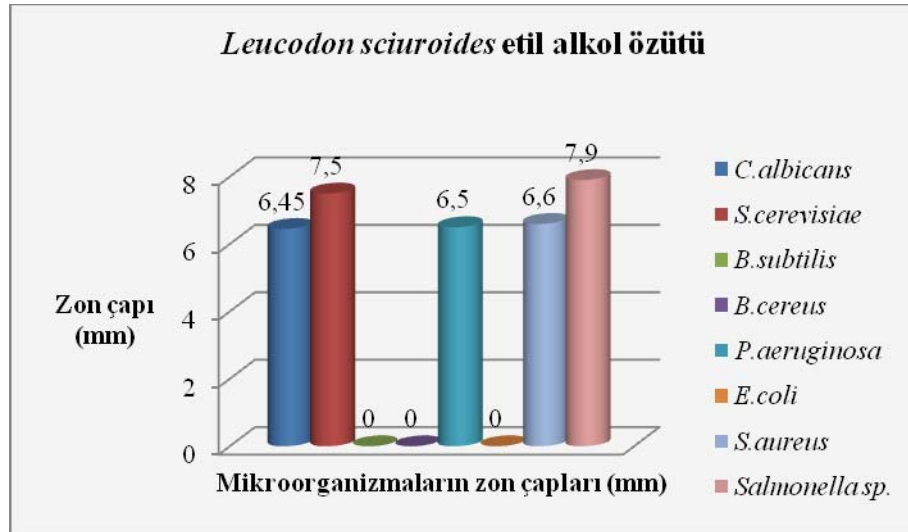
Çizelge 3.2 *L. sciuroides* örneğinden elde edilen özütlerin test mikroorganizmalarına olan etkisi

Çözücü M.O	İnhibisyon zon çapları (mm)			
	Kloroform	Etil Alkol	Metil Alkol	Aseton
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	–	6,45	–	7,9
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	7,25	7,5	9,1	6,95
<i>B.subtilis</i> RSKK 244	7,25	–	–	–
<i>B.cereus</i> 863	–	–	–	–
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	6,9	6,5	–	7,8
<i>E.coli</i> ATCC 35218	6,7	–	–	–
<i>S. aureus</i> Koag (+)	–	6,6	–	7,65
<i>Salmonella sp.</i>	–	7,9	–	–

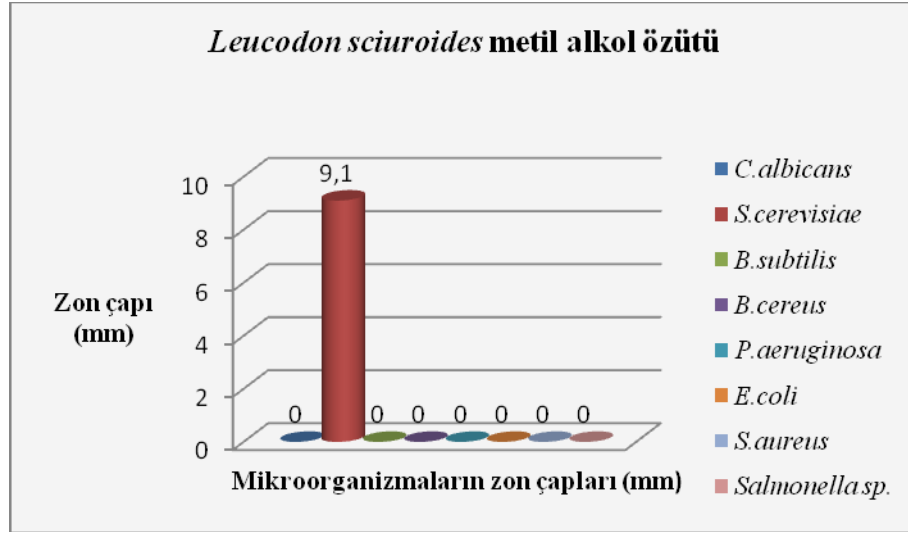
_ : İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir



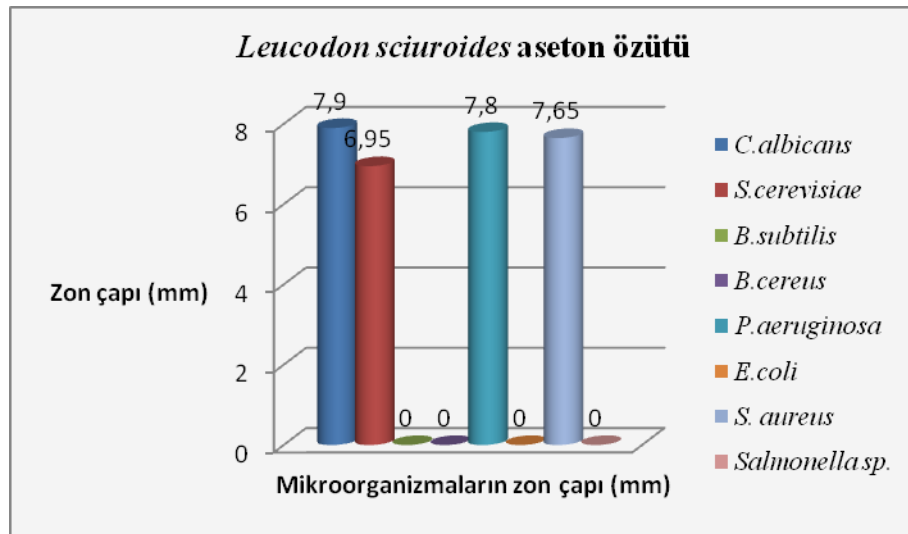
Şekil 3.5 *L. sciuroides* kloroform özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



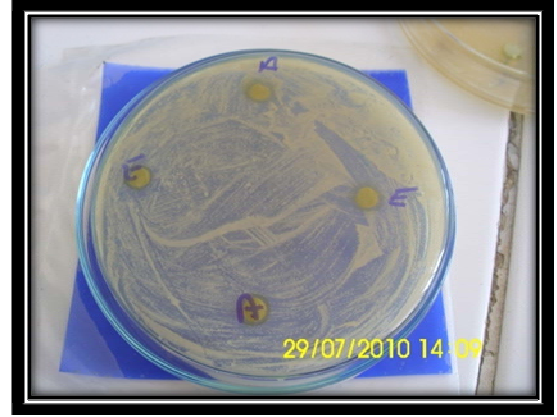
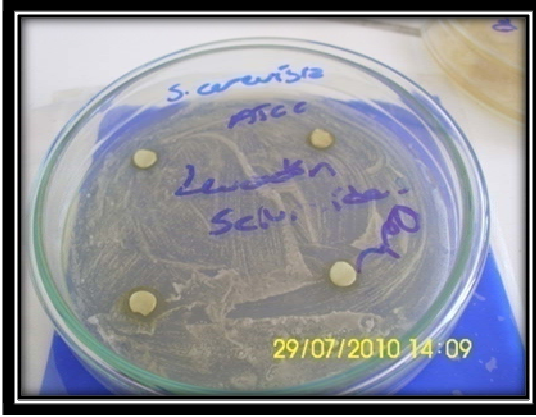
Şekil 3.6 *L. sciuroides* etil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



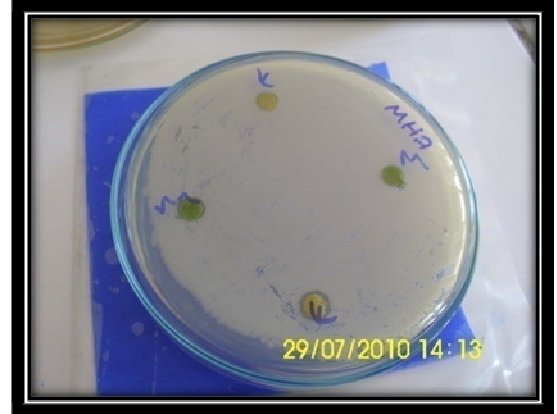
Şekil 3.7 *L. sciuroides* metil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.8 *L. sciuroides* aseton özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Fotoğraf 3.3 Aseton ve etil alkol özütünün *S. cerevisiae* üzerindeki etkisi



Fotoğraf 3.4 Kloroform ve metil alkol özütünün *E. coli* üzerindeki etkisi

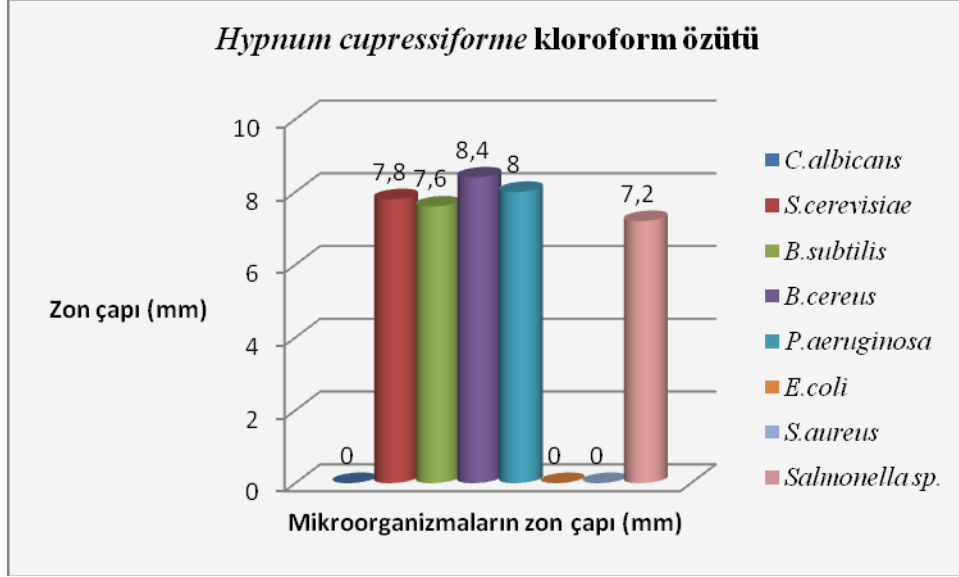
3.1.3 *Hypnum cupressiforme*

Hypnum cupressiforme türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi kloroform özütü 8,4 mm'lik zon çapıyla *B.cereus* 863 test bakterisine karşı verirken, en düşük etkiyi 6,8 mm'lik zon çapıyla metil alkol özütü *Salmonella sp.* referans bakterisine karşı vermiştir. *S. aureus* Koag (+) referans bakterisine hiçbir etki gözlemlenmemiştir.

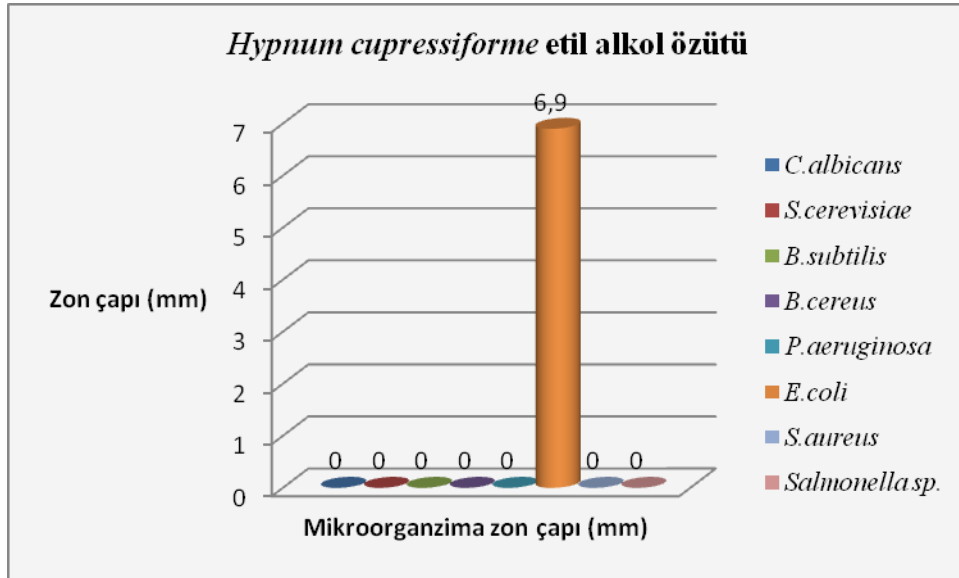
Çizelge 3.3 *H. cupressiforme* örneğinden elde edilen özütlerin test mikroorganizmalarına olan etkisi

Çözücü M.O	İnhibisyon zon çapları (mm)			
	Kloroform	Etil Alkol	Metil Alkol	Aseton
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	–	–	–	7
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	7,8	–	7,7	–
<i>B.subtilis</i> RSKK 244	7,6	–	–	–
<i>B.cereus</i> 863	8,4	–	7,25	–
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	8	–	–	–
<i>E.coli</i> ATCC 35218	–	6,9	–	–
<i>S. aureus</i> Koag (+)	–	–	–	–
<i>Salmonella sp.</i>	7,2	–	6,8	–

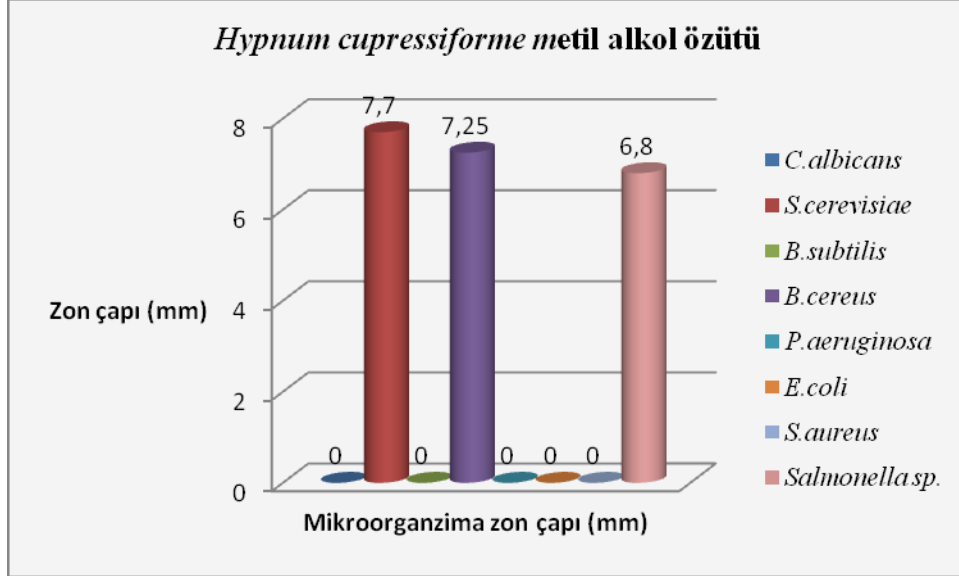
_ : İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir



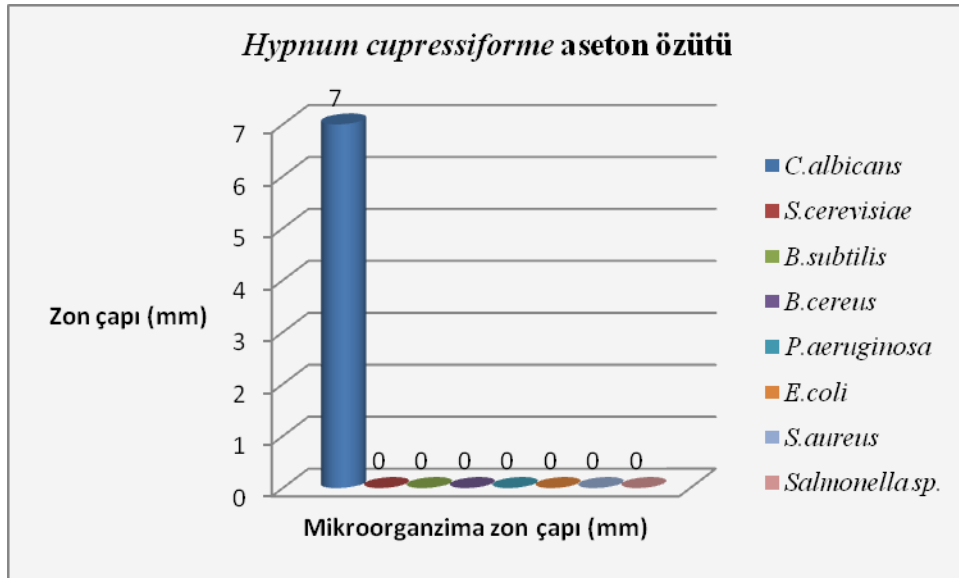
Şekil 3.9 *H. cupressiforme* kloroform özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.10 *H. cupressiforme* etil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



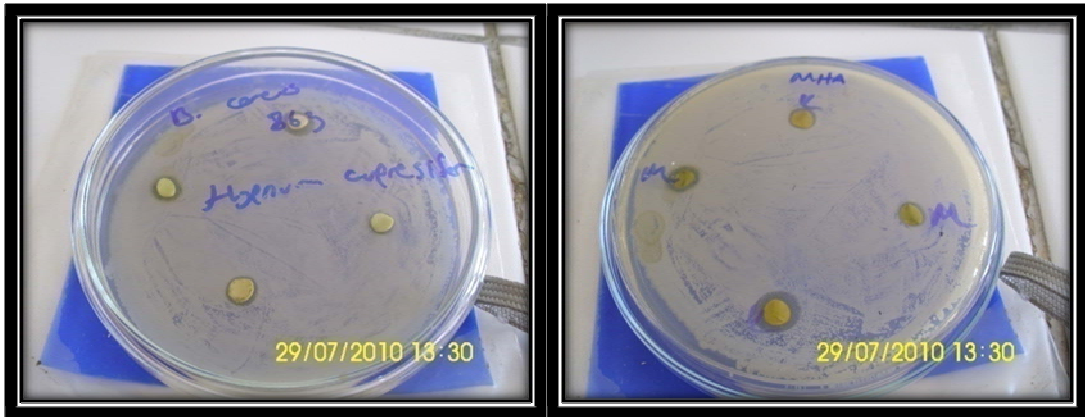
Şekil 3.11 *H. cupressiforme* metil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.12 *H. cupressiforme* aseton özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Fotoğraf 3.5 Kloroform ve metil alkol özütünün *S.cerevisiae* üzerindeki etkisi



Fotoğraf 3.6 Kloroform ve metil alkol özütünün *B.cereus* üzerindeki etkisi

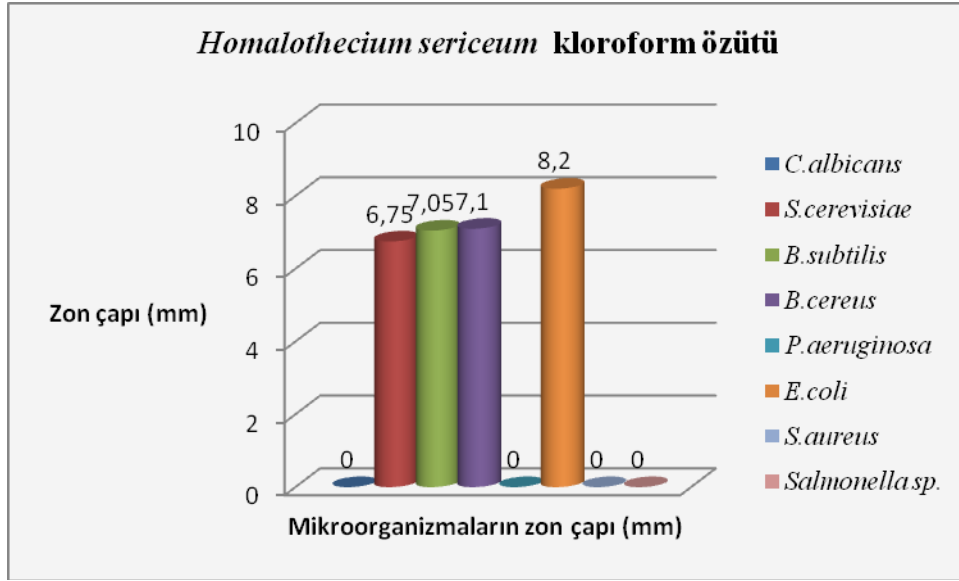
3.1.4 *Homalothecium sericeum*

Homalothecium sericeum türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi aseton özütü 8,25 mm'lik zon çapıyla *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine karşı verirken, en düşük etkiyi 6,4 mm'lik zon çapıyla etil alkol özütü *B.subtilis* RSKK 244 referans bakterisine karşı vermiştir. *Salmonella sp.* referans bakterisine ve *C.albicans* ATCC 16231 test mayasına karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir.

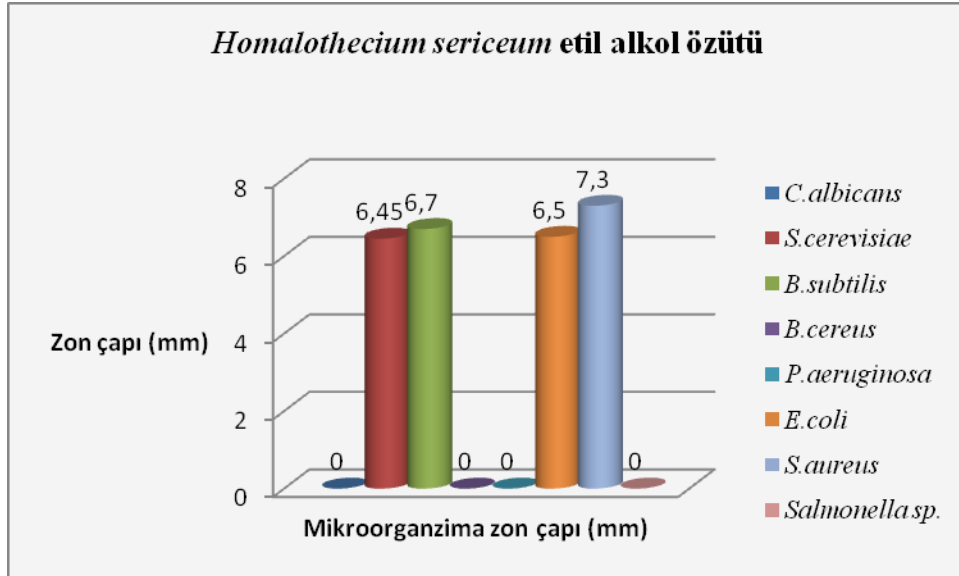
Çizelge 3.4 *H. sericeum* örneğinden elde edilen özütlerin test mikroorganizmalarına olan etkisi

Çözücü M.O	İnhibisyon zon çapları (mm)			
	Kloroform	Etil Alkol	Metil Alkol	Aseton
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	–	–	–	–
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	6,75	6,45	7	6,9
<i>B.subtilis</i> RSKK 244	7,05	6,7	6,4	7,8
<i>B.cereus</i> 863	7,1	–	6,7	–
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	–	–	7,1	8,25
<i>E.Coli</i> ATCC 35218	8,2	6,5	7,35	7,95
<i>S. aureus</i> Koag (+)	–	7,3	–	8
<i>Salmonella</i> <i>sp.</i>	–	–	–	–

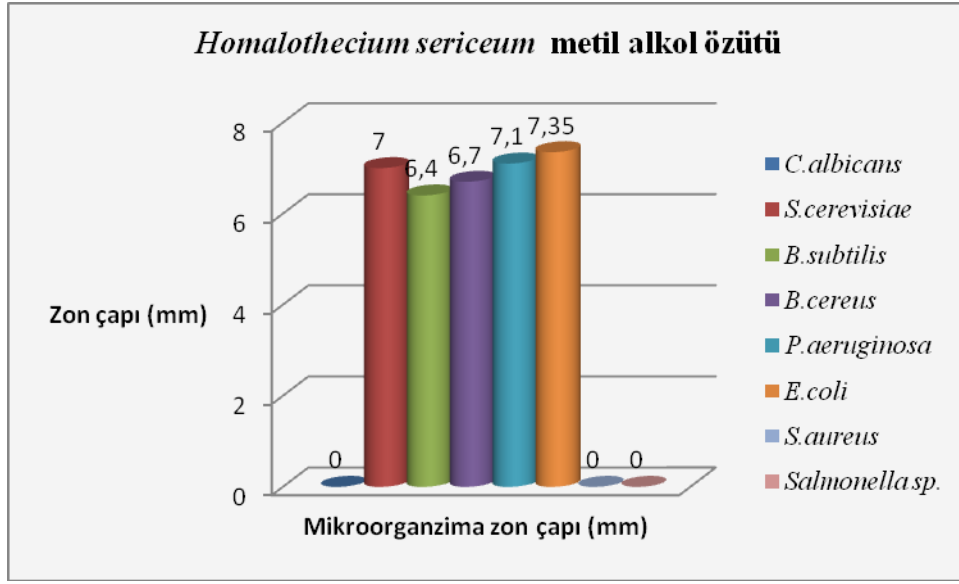
_ :İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir



Şekil 3.13 *H. sericeum* kloroform özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



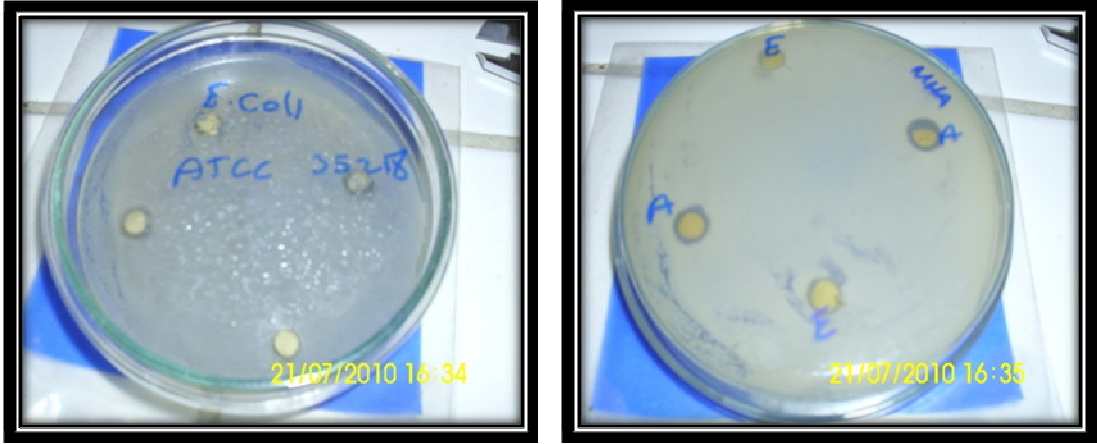
Şekil 3.14 *H. sericeum* etil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



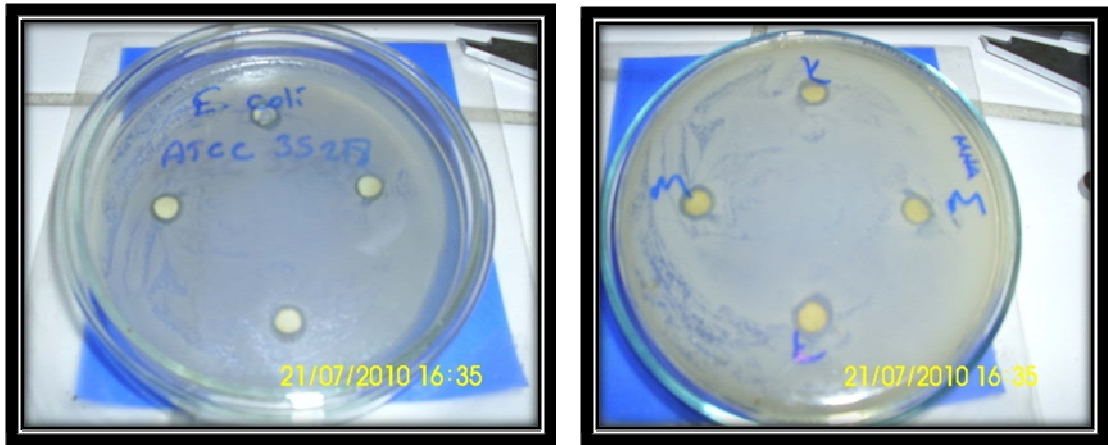
Şekil 3.15 *H. sericeum* metil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.16 *H. sericeum* aseton özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Fotoğraf 3.7 Aseton ve etil alkol özütünün *E.coli* üzerindeki etkisi



Fotoğraf 3.8 Kloroform ve metil alkol özütünün *E.coli* üzerindeki etkisi

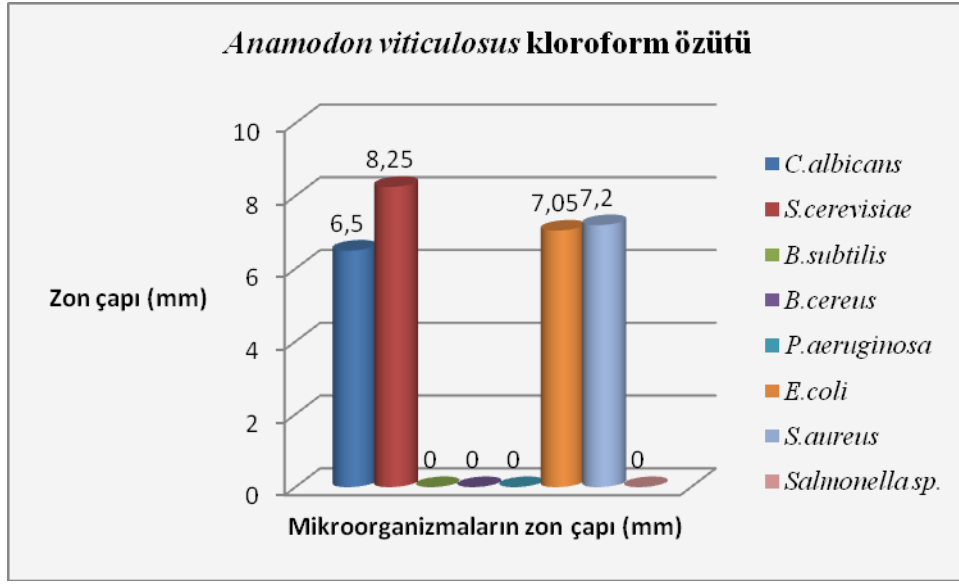
3.1.5 *Anomodon viticulosus*

Anomodon viticulosus türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi aseton özütü 11 mm'lik zon çapıyla *S.cerevisiae* ATCC test mayasına karşı verirken, en düşük etkiyi 6,5 mm'lik zon çapıyla metil alkol özütü *S. aureus* Koag (+) referans bakterisine karşı ve *C. albicans* ATCC 16231 referans mayasına karşı vermiştir. *Salmonella sp.*, *B.subtilis* RSKK 244, *B.cereus* 863 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 test bakterilerine karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir.

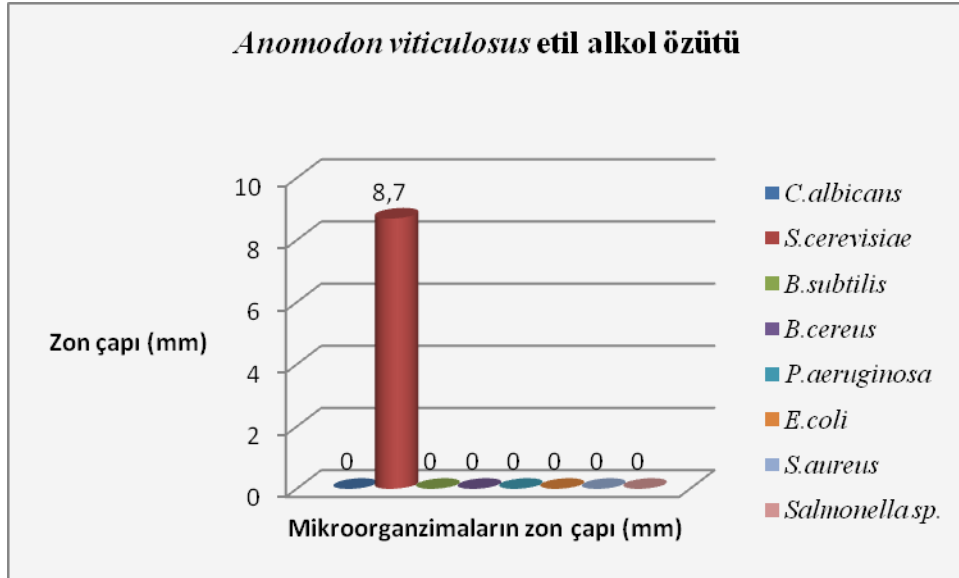
Çizelge 3.5 *A. viticulosus* örneğinden elde edilen özütlerin test mikroorganizmalarına olan etkisi

Çözücü M.O	İnhibisyon zon çapları (mm)			
	Kloroform	Etil Alkol	Metil Alkol	Aseton
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	6,5	–	6,9	–
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	8,25	8,7	8,3	11
<i>B.subtilis</i> RSKK 244	–	–	–	–
<i>B.cereus</i> 863	–	–	–	–
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	–	–	–	–
<i>E.coli</i> ATCC 35218	7,05	–	7,75	–
<i>S. aureus</i> Koag (+)	7,2	–	6,5	–
<i>Salmonella</i> <i>sp.</i>	–	–	–	–

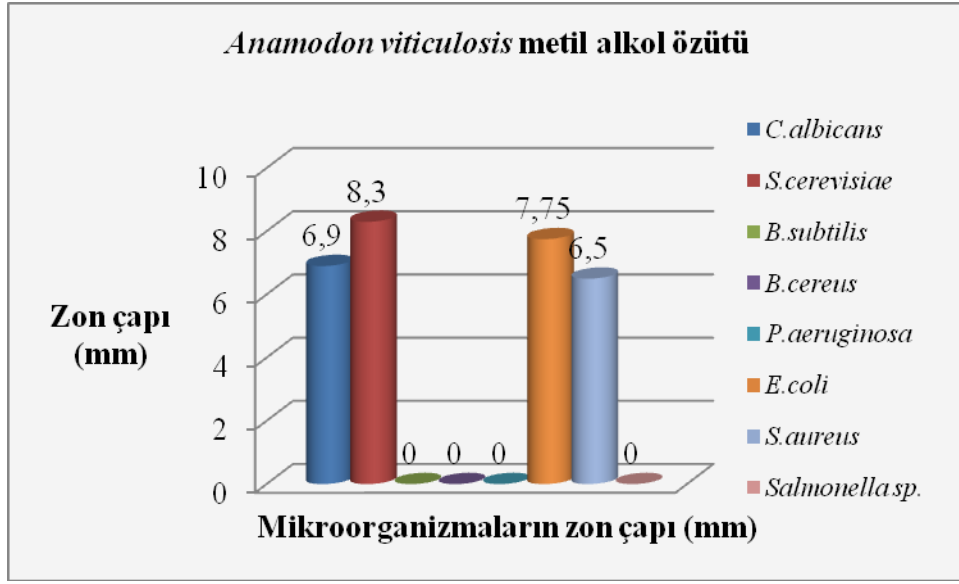
– :İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir.



Şekil 3.17 *A. viticulosus* kloroform özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



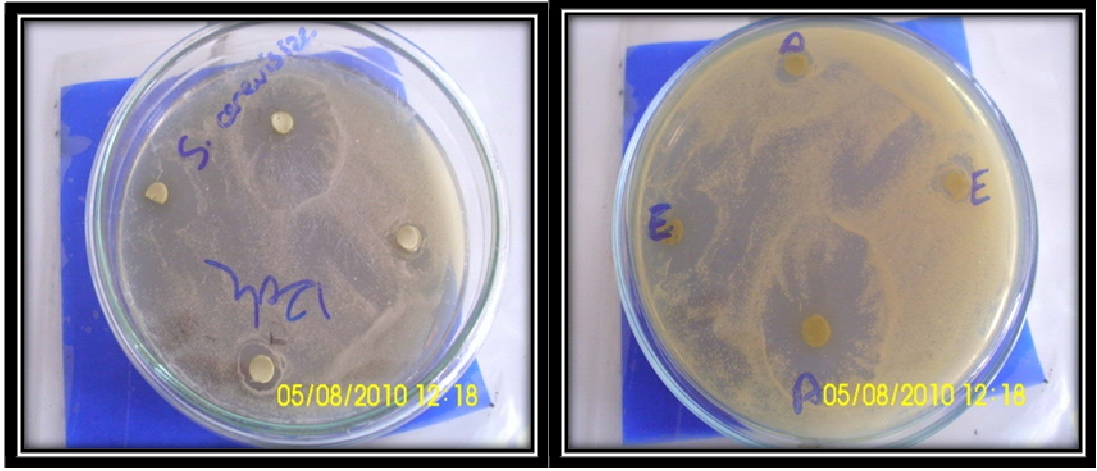
Şekil 3.18 *A. viticulosus* etil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



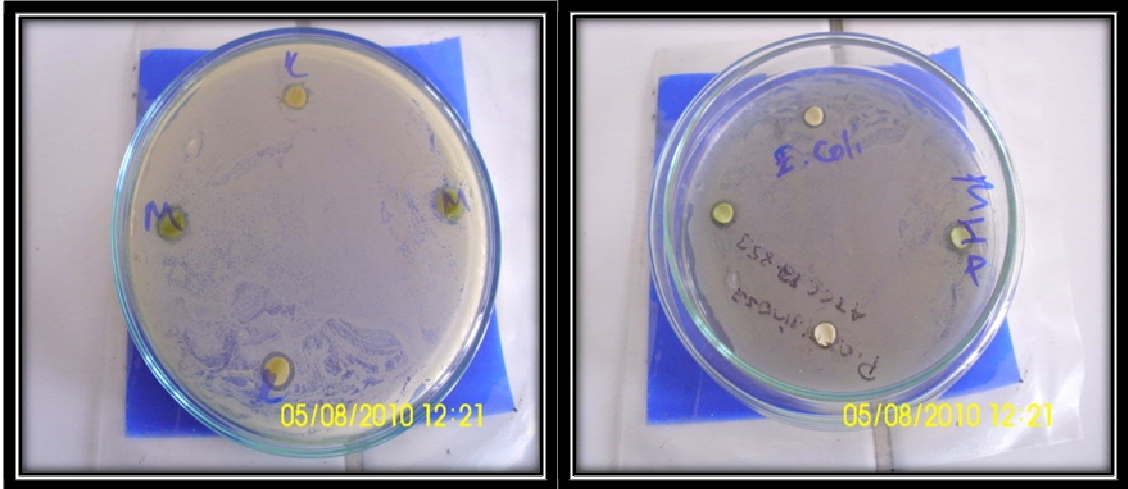
Şekil 3.19 *A. viticulosus* metil alkol özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Şekil 3.20 *A. viticulosus* aseton özütünün ortalama antimikrobiyal etkisi



Fotoğraf 3.9 Aseton ve etil alkol özütünün *S.cerevisiae* ATCC üzerindeki etkisi



Fotoğraf 3.10 Kloroform ve metil alkol özütlerinin *E.coli* üzerindeki etkisi

3.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Uygulandığı Özütler ve Sonuçları

Minimum inhibisyon konsantrasyon testi, referans bakterilerinde inhibisyon zon çapı 8 mm'nin üzerinde olan özütlerle çalışılmıştır. Çalışmada % 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları kullanılmıştır (bölüm 2.2.5).

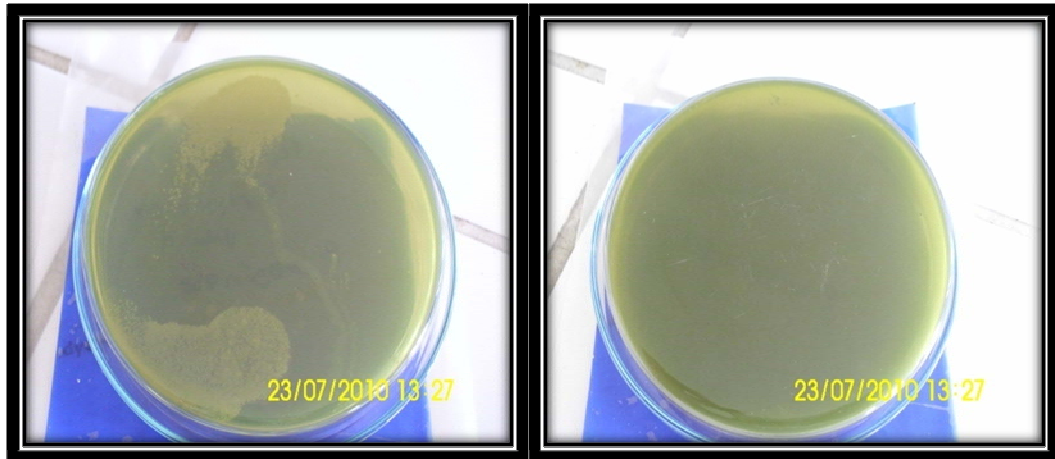
3.2.1 *Platyhypnidium riparioides*

P. riparioides türünde metil alkol özütü *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisinde 8,5mm'lik zon çapı ile inhibisyon etkisi göstermiştir.

% 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları uygulanan çalışmada *P.aeruginosa* ATCC 27853 %14 konsantrasyonuna kadar üreme göstermiş, %14 konsantrasyonunda üreme görülmemiştir.

Çizelge 3.6 *Platyhypnidium riparioides* karayosunu türünün metil alkol özütünü *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri

Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	+	+	+	+	+	+	+	+	-



Fotoğraf 3.11 %7 ve %14 konsantrasyonlarında üreme.

+: Üreme var

_: Üreme yok

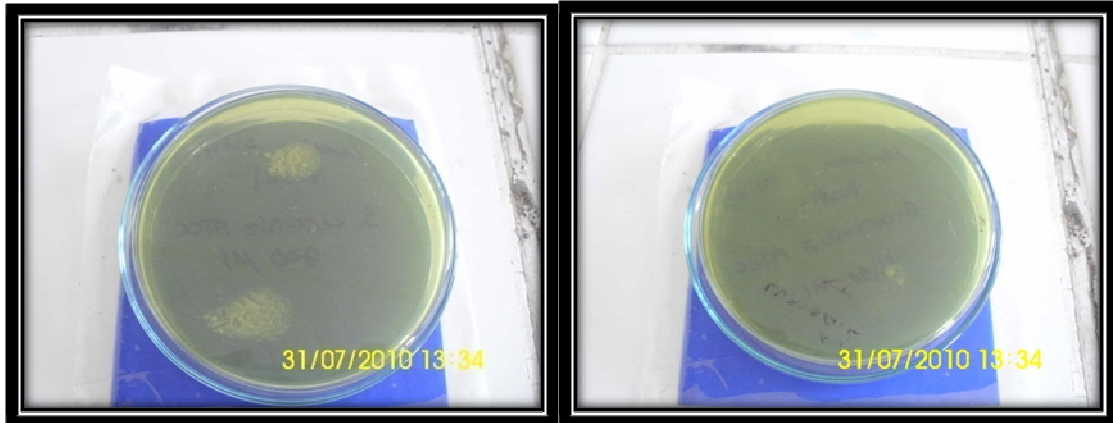
3.2.2 *Leucodon sciuroides*

L. sciuroides türünde metil alkol özütü *S.cerevisiae* ATCC referans mayasında 9,1 mm'lik zon çapı ile inhibisyon etkisi göstermiştir.

% 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları uygulanan çalışmada *S.cerevisiae* ATCC %7 konsantrasyonuna kadar üreme göstermiş, %7 ve %14 konsantrasyonlarında üreme görülmemiştir.

Çizelge 3.7 *L. sciuroides* karayosunu türünün metil alkol özütünün referans *S.cerevisiae* ATCC mayası üzerindeki MİK değeri

Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	-	-



Fotoğraf 3.12 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında üreme

+: Üreme var

_ : Üreme yok

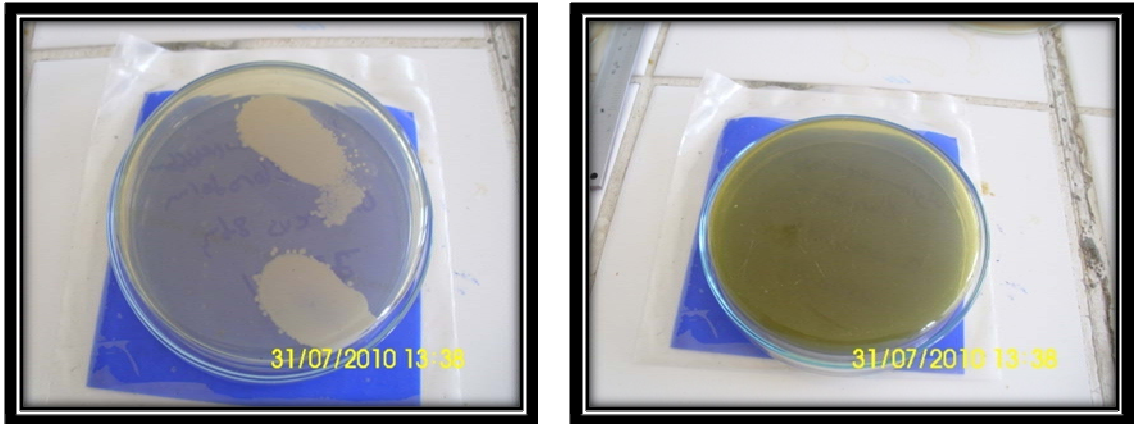
3.2.3 *Hypnum cupressiforme*

Hypnum cupressiforme türünde kloroform özütü *B.cereus* 863 referans bakterisinde 8,4 mm'lik zon çapı ile inhibisyon etkisi göstermiştir.

% 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları uygulanan çalışmada *B.cereus* %14 konsantrasyonuna kadar üreme göstermiş, %14 konsantrasyonunda üreme görülmemiştir.

Çizelge 3.8 *H. cupressiforme* karayosunu türünün kloroform özütünün *B.cereu*863 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri

Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>B.cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-



Fotoğraf 3.13 %7 ve %14 konsantrasyonlarında üreme

+: Üreme var

_ : Üreme yok

3.2.4 *Homalothecium sericeum*

H. sericeum türünde kloroform özütü *E.coli* ATCC 35218 referans bakterisinde 8,2 mm'lik zon çapı ile ve aseton özütü *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisinde 8,25mm'lik zon çapı ile inhibisyon etkisi göstermiştir.

% 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları uygulanan çalışmada *E.coli* ATCC 35218 ve *P.aeruginosa* ATCC %14 konsantrasyonuna kadar üreme göstermişlerdir, %14 konsantrasyonunda üreme görülmemiştir.

Çizelge 3.9 *H. sericeum* karayosunu türünün kloroform özütünün *E.coli* ATCC 35218 referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.

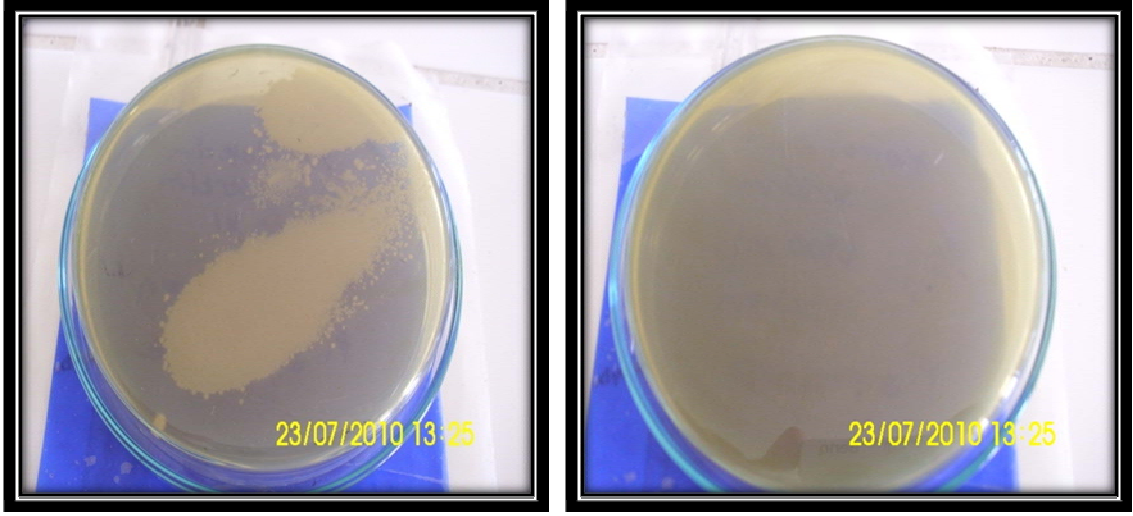
Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-

Çizelge 3.10 *H. sericeum* karayosunu türünün aseton özütünün *P.aeruginosa* ATCC referans bakterisi üzerindeki MİK değeri.

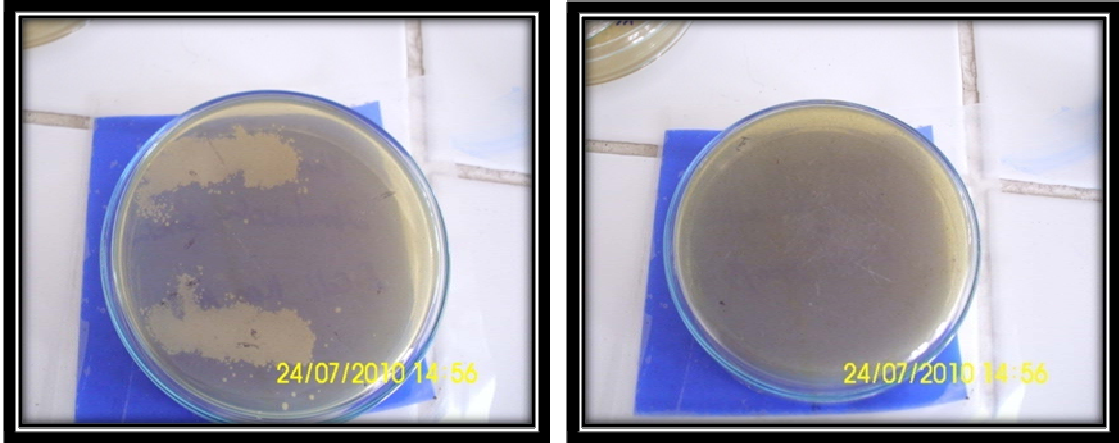
Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>P.aeruginosa</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-

+: Üreme var

_: Üreme yok



Fotoğraf 3.14 %7 ve %14 aseton özütü konsantrasyonlarında *P.aeruginosa* referans bakterisinde üreme



Fotoğraf 3.15 %7 ve %14 kloroform özütü konsantrasyonlarında *E.coli* referans bakterisinde üreme

3.2.5 *Anomodon viticulosus*

A. viticulosus türünde referans *S.cerevisiae* ATCC referans mayasında kloroform özütü 8,25 mm'lik zon çapı ile, aseton özütü 11mm'lik zon çapı ile, etil alkol özütü 8,7 mm'lik zon çapı ile ve metil alkol özütü 8,3mm'lik zon çapı ile inhibisyon etkisi göstermiştir.

% 0,05, % 0,1, %0,2, %0,4, % 0,8, % 1,75, % 3,5, % 7, %14 konsantrasyonları uygulanan çalışmada *S.cerevisiae* ATCC bütün özütlerde %7 konsantrasyonuna kadar üreme göstermişlerdir, %7 konsantrasyonunda üreme görülmemiştir.

Çizelge 3.11 *A. viticulosus* karayosunu türünün metil alkol özütünün referans *S.cerevisiae* ATCC mayası üzerindeki MİK değeri

Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Çizelge 3.12 *A. viticulosus* karayosunu türünün etil alkol özütünün referans *S.cerevisiae* ATCC mayası üzerindeki MİK değeri

Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Çizelge 3.13 *A. viticulosus* karayosunu türünün kloroform özütünün referans *S.cerevisiae* ATCC mayası üzerindeki MİK değeri

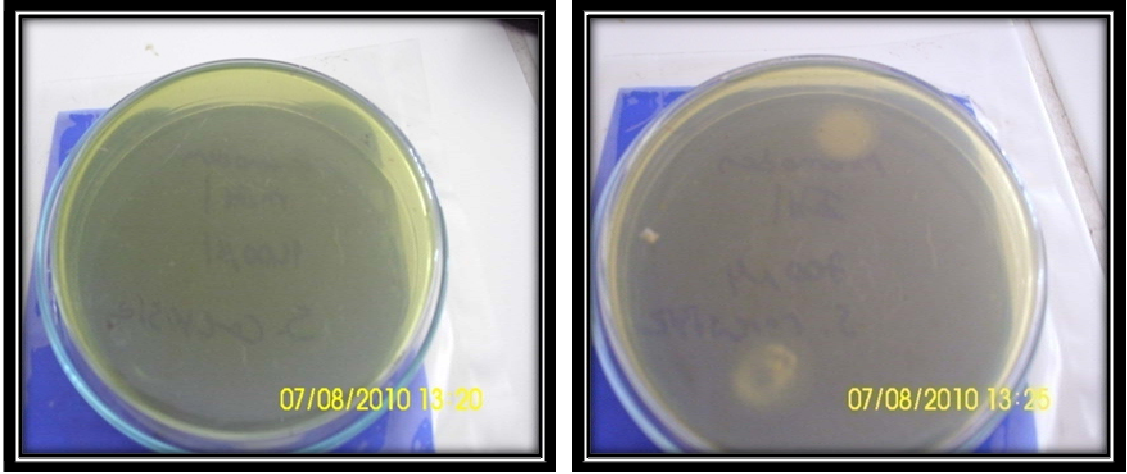
Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	-	-

Çizelge 3.14 *A. viticulosus* karayosunu türünün aseton özütünün referans *S.cerevisiae* ATCC mayası üzerindeki MİK değeri

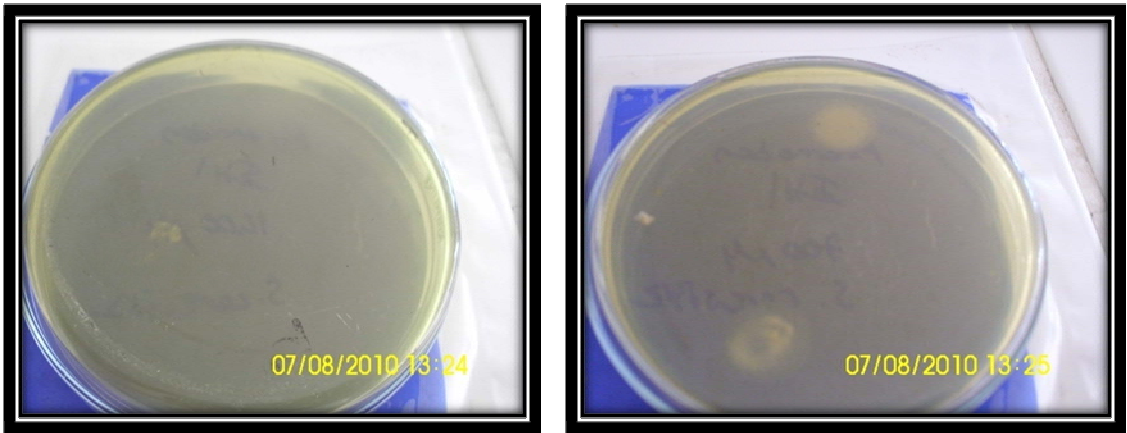
Konsant M.O	%0,05	%0,1	%0,2	%0,4	%0,8	%1,75	%3,5	%7	%14
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	+	+	+	+	+	+	+	-	-

+: Üreme var

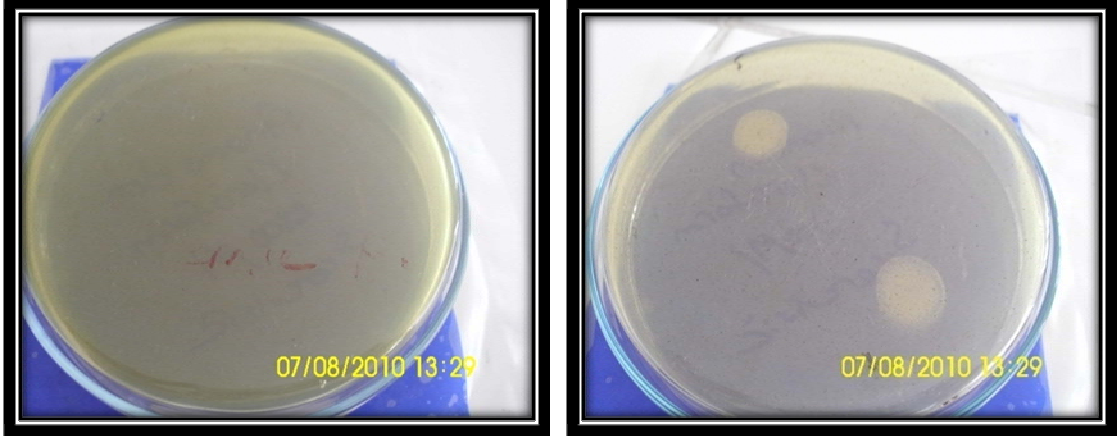
_ : Üreme yok



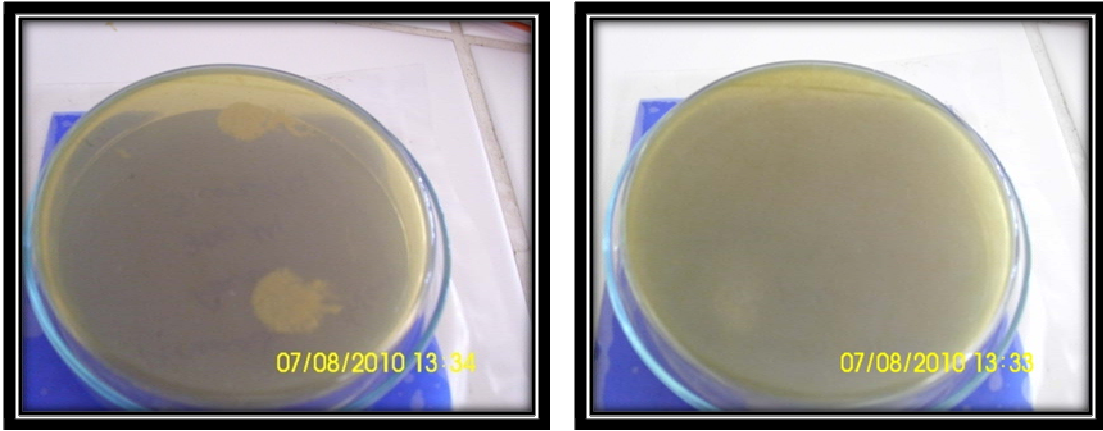
Fotoğraf 3.16 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında metil alkol özütünde üreme



Fotoğraf 3.17 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında etil alkol özütünde üreme



Fotoğraf 3.18 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında kloroform özütünde üreme



Fotoğraf 3.19 %3,5 ve %7 konsantrasyonlarında aseton özütünde üreme

3.3 Referans Antibiyotiklerin Test Bakterileri Üzerindeki İnhibisyon Etkileri

Çizelge 3.15 Referans antibiyotiklerin test mikroorganizmaların üzerindeki etkisi

Antibiyotik M.O	İnhibisyon zon çapı (mm)			
	P ₁₀	AM ₁₀	E ₁₅	V ₃₀
<i>C. albicans</i> ATCC 16231	–	–	–	–
<i>S.cerevisiae</i> ATCC	–	–	–	–
<i>B.subtilis</i> RSKK 244	30,6	21,3	28,3	15,1
<i>B.cereus</i> 863	30,8	22,8	29	16,5
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	33,1	21,1	29,3	14,2
<i>E.coli</i> ATCC 35218	32,4	22	29,4	–
<i>S. aureus</i> Koag (+)	26,5	18,7	31,7	15
<i>Salmonella sp.</i>	31,3	19,2	30,4	16,3

P₁₀: Penisilin 10mg

AM₁₀: Amfisilin 10 mg

E₁₅: Eritromisin 15mg

V₃₀: Vankomisin 30 mg

– :İnhibisyon zon çapı tespit edilmemiştir

TARTIŞMA SONUÇ

4.1 Örnek Karayosunlarının İncelenmesi

4.1.1 *Platyhypnidium riparioides*

P. riparioides türünde, metil alkol özütü *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisine karşı en yüksek etkiyi göstermiştir. *C. albicans* ATCC 16231 referans mayasına karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir (çizelge 3.1). Dülger ve arkadaşları bu karayosunu örneğinin etil alkol özütüyle çalışmışlardır [6]. İki çalışma arasında konsantrasyon ve kullanılan özüt miktarı farklıdır. Çalışmamızda 10 mg/ml konsantrasyonundaki özüt 20 µl olarak disklerle emdirilmiştir. Dülger ve arkadaşları ise 200 mg/ml konsantrasyonundaki özütü 50 µl olarak disklerle emdirmişlerdir. Çalışmalarında ortak mikroorganizmalar arasında en yüksek inhibisyon zon çapı *P.aeruginosa* test mikroorganizmasına karşı görülmüştür [6]. Buna karşı çalışmamızda etil alkol özütü *P.aeruginosa* ATCC 27853 referans bakterisine karşı hiçbir etki göstermemiştir. Bunun yanında *C. albicans* ATCC 16231 referans mayası çalışmamızda hiçbir özüte cevap vermezken Dülger ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada kullandıkları özüt *C.albicans* referans mayasına karşı 11,2 mm'lik zon çapıyla etki göstermiştir. Sonuçlardaki bu farklılıkları aynı tür test mikroorganizmalarının suş farklılıklarına ve örnek türün toplandığı habitat farklılıklarına bağlanabilir. Ayrıca Altuner (2008) yaptığı doktora tez çalışmasında karayosunlarının toplandığı habitat, özellikle barındığı fiziksel ortamın antimikrobiyal aktivitede önemli olduğunu belirtmiştir [11]. Bunların yanında konsantrasyon farkı da bu sonuçlarda gözetilmelidir.

Her iki çalışmanın etil alkol özütlerinde *B.cereus* ve *B.subtilis* referans bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteye rastlanmıştır. Çalışmamızda etil alkol özütü *S. aureus* Koag (+) ve *E.coli* ATCC 35218 test bakterilerine karşı hiçbir etki göstermezken (Çizelge 3.1) Dülger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antibakteriyel etkiye rastlanılmaktadır [6]

Çalışmamızda, *P. riparioides* karayosunu türünde en fazla antimikrobiyal etki metil alkol özütünde, en düşük antimikrobiyal etki etil alkol özütünde gözlemlenmektedir (Çizelge 3.1). Altuner (2008) yaptığı doktora tez çalışmasında ekstraksiyon sırasında

kullanılan çözücünde karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini etkilediğini belirtmiştir [11].

4.1.2 *Leucodon sciuroides*

L. sciuroides türünde, metil alkol özütü *S.cerevisiae* ATCC referans mayasına karşı en yüksek etkiyi göstermiştir. *B.cereus* 863 referans bakterisine karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir (çizelge 3.2) . Dülger ve arkadaşları bu karayosunu örneğinin metil alkol özütünü çalışmışlardır [46]. Kullandıkları konsantrasyon 30 mg/ml'dir. Çalışmalarında ortak mikroorganizmalar arasında en yüksek antimikrobiyal aktivite 12,4 mm'lik inhibisyon zon çapı ile *B.subtilis* ATCC 6633 referans test bakterisine karşı gözlemlenmiştir [46]. En düşük inhibisyon zonu ise 9,1 mm'lik zon çapı ile *E.coli* ATCC 11230 referans test bakterisine karşı tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise metil alkol özütü yalnızca *S.cerevisiae* ATCC referans mayasına karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. *P. riparioides* karayosunu türündeki sonuç farklılıklarına sebep olarak gösterdiğimiz şartlar (konsantrasyon farkı, bulunduğu fiziksel koşullar, aynı tür bakterinin farklı suşları) bu karayosunu örneğinde de gösterilebilir.

Çolak ve ark. yaptıkları çalışmada aynı karayosunun aseton özütünde sadece antifungal etki gözlemlenmiş, antibakteriyel etkiye rastlanmamıştır. En yüksek antifungal etkiyi 13,25 mm zon çapıyla *S. cerevisiae* üzerinde kloroform özütünün, en yüksek antibakteriyel etkiyi ise 7,8 mm zon çapıyla *Salmonella sp.* referans bakterisine karşı kloroform ve metil alkol özütünün gösterdiği tespit edilmiştir [47]. Bu çalışmada ise en yüksek antifungal etkiyi 9,1 mm'lik zon çapı ile *S. cerevisiae* referans mayasına, en yüksek antibakteriyel etkiyi ise etil alkol özütü 7,9 mm'lik zon çapı ile *Salmonella sp.* referans bakterisine karşı gözlemlenmiştir. Kullanılan bakteri suşların, çözücülerin, karayosunu türünün aynı olmasına rağmen aynı özütlerin farklı mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermesi farklı habitatlardan toplanmasına dayandırılabilir. Çalışmada kullanılan karayosunu örneği Amanos dağlarından toplanmış ve yaklaşık 1 yıl kadar herbaryumda saklanmıştır. Bu çalışmada kullanılan karayosunu örneği ise Zonguldak ve çevresinden toplanmıştır. Ayrıca toplanan bu materyaller taze kullanılmıştır. Zonguldak dolaylarındaki hava kirliliği ve habitat şartları bitkinin sekonder metabolitlerini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu durum karayosunlarının indikatör özelliğini bir kez daha ortaya koymaya yardımcı olabilir.

Aynı türün farklı örneklerinin farklı bölgelerden toplanmasıyla yapılacak çalışmalar bu konuya daha çok ışık tutacaktır.

Karayosununun indikatör özelliğinin antimikrobiyal aktiviteyi etkilemesi daha sonraki yapılacak çalışmalarda daha iyi tespit edilebilir. Farklı habitatlardan ve fiziksel koşullardan toplanan karayosunu örneklerinin sekonder metabolitlerinin izolasyonu ve sekonder metabolitlerin antimikrobiyal aktiviteye etkisi tespit edilebilir.

L. sciuroides örneğinde metil alkol özütü mikroorganizmalar üzerinde sayısal olarak en az etkiye sahipken (yalnızca bir mikroorganizma üzerinde etkili), etil alkol özütü en fazla etkiye sahiptir (beş mikroorganizma üzerinde etkili). Bu sonuca dayanarak her çözücünün aynı aromatik bileşikleri çözmediği savunulabilir. Dolayısıyla çözücünün antimikrobiyal aktivitede etki olduğu sonucuna varılabilir.

4.1.3 *Hypnum cupressiforme*

H. cupressiforme türünde, kloroform özütü *B.cereus* 863 referans bakterisine karşı en yüksek etkiyi göstermiştir. *S. aureus* Koag (+) referans bakterisine karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir (çizelge 3.3). Dülger ve arkadaşları *H. cupressiforme* karayosunu örneğinin metil alkol özütünü çalışmışlardır. Çalışmalarında kullanılan ortak mikroorganizmalar içerisinde en yüksek antimikrobiyal etkiyi 14,2 mm lik zon çapı ile *B.subtilis* ATCC 6633 bakterisine karşı göstermiştir [46]. Bu çalışmada ise metil alkol özütü *B.subtilis* test bakterisine karşı 7,25 mm'lik zon göstermiştir. Dülger ve arkadaşları 30 mg/ml konsantrasyonunu kullanırken, bu çalışmada 10 mg/ml konsantrasyon kullanılmıştır [46]. Bu çalışmada metil alkol özütü *S.cerevisiae* ATCC referans mayasına 7,7 mm, *B.cereus* 863 7,25mm ve *Salmonella sp.* 6,8mm'lik inhibisyon zon çapı gösterirken diğer referans mikroorganizmalarına herhangi bir etkiye bulunmamışlardır (çizelge 3.3). Dülger ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise aynı özütte kullanılan tüm ortak mikroorganizmalarda (*B.subtilis* ATCC 6633, *E.coli* ATCC 11230, *P.aeruginosa* ATCC 17853, *S.aureus* ATCC 6538 ve *C.albicans* ATCC 10231) karşı antimikrobiyal etkiye rastlanılmıştır. Yine habitatın, fiziksel özelliklerin dolayısıyla karayosunlarını indikatör özelliklerine dayandırılabilir.

Veljic ve arkadaşları (2009) *Hypnum cupressiforme* karayosunu örneğinin üç farklı konsantrasyonda antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir [48]. Ortak olarak kullandığımız bakteriler *E.coli* ve *B.subtilis* referans bakterileridir. 2mg/disk, 1mg/disk

ve 0,5mg/disk konsantrasyonlarında yaptıkları çalışmada, *E.coli* referans bakterisine karşı sırayla 9mm, 8mm, ve 7,67mm inhibisyon zon çapı gösterirken, *B.subtilis* referans bakterisine karşı sırayla 8mm, 5mm ve 5mm inhibisyon zon çapı göstermiştir [48]. Konsantrasyonunda antimikrobiyal aktivitede önemi çalışmalardaki farklı zon çaplarıyla ortaya çıkmaktadır.

Hypnum cupressiforme karayosunu türünün aseton özütünde sadece *C. albicans* ATCC 16231 referans mayasına karşı etki ederken, etil alkol özütü yalnızca *E.coli* ATCC 35218 referans bakterisine karşı etki göstermiştir. En fazla kloroform özütünde antimikrobiyal aktiviteye rastlanmıştır (çizelge 3.3). Bu sonuçlara dayanarak her çözücünün farklı sekonder metabolitleri çözdüğü düşünülebilir. Aynı karayosunu örneğinin aynı mikroorganizmaya farklı etki etmesi de bu sonuca dayandırılabilir.

4.1.4 *Homalothecium sericeum*

H. sericeum türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi aseton özütü 8,25 mm'lik zon çapıyla *P. aeruginosa* ATCC 27853 test bakterisine karşı verirken, *Salmonella sp.* referans bakterisine ve *C.albicans* ATCC 16231 test mayasına karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir (çizelge 3.4). Dülger ve ark. . *H. sericeum* örnek karayosunuyla yaptıkları çalışmada metil alkol özütünü kullanmışlardır. [46]. Ortak bakteriler arasında en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 11,8mm'lik zon çapı ile *E.coli* ATCC 11230 ve *S.aureus* ATCC6538 referans bakterilerine karşı verirken, en düşük aktivite 9,2 mm'lik zon çapı ile *C.albicans* ATCC 10231 referans mayasına karşı tespit edilmiştir [46]. Dülger ve arkadaşları 30 mg/ml konsantrasyonuyla çalışmışlardır. Her iki çalışmada da metil alkol özütü *B.subtilis*, *E.Coli* ve *P.aeruginosa* test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir. Diğer karayosunu örneklerinde bulunan farklılıkların dayandırıldığı sebepler bu karayosunu örneğinde de değerlendirilebilir.

H. sericeum örneği bütün çözücülerde hemen hemen eşit etkiye sahipken *Salmonella sp* ve *C.albicans* referans mikroorganizmalarına karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir

(çizelge 3.4). Bu durum çözücülerin bu iki mikroorganizma dışındaki mikroorganizmalara etkili sekonder metabolitleri çözdüğü şeklinde düşünülebilir.

4.1.5 *Anomodon viticulosus*

A. viticulosus türünde en yüksek antimikrobiyal etkiyi aseton özütü 11 mm'lik zon çapıyla *S.cerevisiae* ATCC test mayasına karşı verirken, *Salmonella sp*, *B.subtilis* RSKK 244, *B.cereus* 863 ve *P.aeruginosa* ATCC 27853 test bakterilerine karşı hiçbir etki gözlemlenmemiştir (çizelge 3.5). Dülger ve arkadaşları aynı örneğin etil alkol özütüyle yaptıkları çalışmada en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi 14,8 mm'lik inhibisyon zon çapı ile *S. aureus* referans mikroorganizmasına karşı tespit ederken en düşük antimikrobiyal aktivite 11,2 mm'lik zon çapı ile *C.albicans* referans mayasına karşı tespit etmişlerdir [6]. İki çalışma arasında konsantrasyon ve kullanılan özüt miktarı farklıdır. Çalışmamızda 10 mg/ml konsantrasyonundaki özütü, 20 µl olarak disklerle emdirdik. Dülger ve arkadaşları ise 200 mg/ml konsantrasyonundaki özütü 50 µl olarak disklerle emdirmişlerdir. Ortak kullanılan mikroorganizmalarda *B.cereus*, *B.subtilis* ve *P.aeruginosa* referans bakterilerine karşı çalışmamızda hiçbir etki gözlemlenmezken Dülger ve arkadaşlarının çalışmasında antimikrobiyal aktivitede etkin rol oynamışlardır. Konsantrasyon farkı çalışmalardaki veri farklılıklarında etkin olduğu düşünülebilir. Ayrıca çalışmamızda kullandığımız diğer karayosunu örneklerinde öne sürdüğümüz habitat ve fiziksel koşul farklılıkları da sebepler arasında yer alabilir.

Altuner (2008) yaptığı doktora çalışmasında farklı habitatlardan aynı türdeki karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini incelemiş ve bu inceleme sonucunda farklılıklar olduğunu tespit etmiştir [11].

A. viticulosus örneğinin aseton ve etil alkol özütleri yalnızca *S.cerevisiae* referans mayasında antimikrobiyal etkiye sebep olurken diğer iki çözücüde hemen hemen eşit etki söz konusudur (çizelge 3.5). Bu durum bütün çözücülerin *S.cerevisiae* referans mayasına karşı antimikrobiyal etkinlikte bulunacak sekonder metabolitleri çözdükleri şeklinde yorumlanabilir.

4.2 Referans Mikroorganizmalar

P. riparioides karayosunu türü Gram (+) bakterilere karşı ortalama 6,65mm, Gram (-) bakterilere karşı ortalama 7,33 mm, zon çapına sahiptir. *L. sciuroides* karayosunu türünde Gram (+) 7,16 mm Gram(-) bakterilere karşı ise 7,16 mm, zon çapına, *H. cupressiforme* karayosunu türünde Gram (+) bakterilere 7,75 mm, Gram (-) bakterilere 7,22 mm zon çapı *H. sericeum* karayosunu türünde Gram (+) bakterilere 7,13 mm Gram (-) bakterilere 7,55 mm, zon çapı, *A. viticulosus* karayosunu türünde Gram (+) bakterilere 6,85 mm Gram (-) bakterilere 7,4 mm'lik zon çaplarında etkiye sahiptirler. Tüm bu hesaplara dayanarak Gram (+) bakterilere karşı ortalama 7,1 mm zon çapına, Gram(-) bakterilere karşı 7,33 mm'lik zon çapı tespit edilmiştir.

İlhan ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada Gram(-) bakterilerin Gram(+) bakterilere oranla karayosunu özütlerine daha fazla duyarlı oldukları tespit edilmiştir [21]. Aynı sonuç Bodade ve ark. (2008) ve Basile ve ark. (1999) tarafından da tespit edilmiştir. [3,2] Buna rağmen çalışmamızda Gram(+) ve Gram(-) bakterilerde ortalama aynı oranlarda inhibisyon zon çapı tespit edilmiştir. Yapılan bütün çalışmalarda karayosunlarının türü ve çözücüleri farklı olmakla beraber, genel yargının dışında sonuçlar elde edilmiştir.

Referans mayalarda *S.cerevisiae* türü *C. albicans* türüne oranla özütler daha duyarlı olduğu çalışmamızda tespit edilmiştir.

4.3 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Minimum inhibisyon konsantrasyon çalışmalarında, konsantrasyonun arttıkça üremenin azaldığı saptanmıştır. Bu da demek oluyor ki konsantrasyonla üreme ters orantılıdır.

S.cerevisiae ATCC referans mayası üzerinde yapılan MİK çalışmalarında, minimum inhibisyon konsantrasyon değeri %7 çıkmıştır. *L. sciuroides* karayosunu türünün metil alkol özütü ve *A. viticulosus* karayosunu türünün bütün özütlerinde yapılan çalışmalarda bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Pleurokarpik karayosunlarının tercih ettiği nemli habitatlarda mayaların gelişmesi daha elverişlidir bu yüzden oluşturdukları sekonder metabolitler mayalara karşı antimikrobiyal etki göstermeleri muhtemeldir. Bu sonuçlara

göre *C.albicans* referans mayası *S.cerevisiae* referans mayasına göre daha dirençli olduğu düşünülebilir.

Pl.m riparioides karayosunu türünün metil alkol özütünün *P.aeruginosa* ATCC referans bakterisi üzerinde çalışılan MİK değeri %14dür (çizelge 3.6). Aynı MİK değeri *H. cupressiforme* karayosunu türünün kloroform özütünün *B.cereus* 863 referans bakterisi üzerinde (çizelge 3.8), *H. sericeum* karayosunu türünün kloroform özütünün *E.coli* ATCC 35218 referans bakterisi üzerinde (çizelge 3.9) ve *H. sericeum* karayosunu türünün aseton özütünün *P.aeruginosa* ATCC referans bakterisi üzerinde gözlemlenmektedir (çizelge 3.10). Aynı değerlere sahip olan farklı çalışmalardan yola çıkarak, sekonder metabolitlerin referans bakteriler üzerinde en az %14 lük konsantrasyonla etkilerini gösterdiklerini söylenebilir.

4.4 Referans Antibiyotiklerin Elde Edilen Özütlerle Mukayesesi

Elde edilen özütlerin en az birinin her bir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkisi tespit edilmiştir. Böylece özütlerin, çalışmadaki referans antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilceği düşünülebilir. Daha öncede belirtildiği gibi özütlerin mikroorganizmalara karşı olan antimikrobiyal aktiviteleri konsantrasyonla doğru orantılıdır. Özütlerin konsantrasyonu referans antibiyotiklerin konsantrasyonlarıyla aynı seviyeye getirildiği takdirde özütlerin mikroorganizmalar üzerindeki inhibisyon etkisi artacaktır.

Daha sonra yapılacak çalışmalarda özütlerdeki mikroorganizmalar üzerindeki etkin maddeleri tespit edildiği takdirde günümüzün farmokolojide büyük bir problemi olan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı dirençliliğine çözüm getirileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- [1] Yiğit, D. Yiğit, N. Aktaş, E. Özgen, U. Ceviz (JUGLANS REGIA L.)’in Antimikrobiyal Aktivitesi, Türk Mikrobiyal Cem Derg (1-2): 7-11 2009.
- [2] Basile, A., Giodano, S., Lopez-Saez, J. A., and Cobianchi, C.R., Antibacterial activity of pure Flavonoids isolated from mosses, Phytochemistry, 52, 1479-1482, 1999.
- [3] Bodade, R.G., Borkar, P.S., Arfeen and S., Khobragade, C.N., In vitro Screening of Bryophytes for Antimicrobial Activity, Journal of Medicinal Plants , 7, (4), 23-28 Winter 2008.
- [4] Kumar, K., K. K. Singh, A. K. Asthana, and Nath V., Ethnotherapeutics of bryophyte *Plagiochasma appendiculatum* among the Gaddi Tribes of Kangra valley, Himachal Pradesh, Pharmaceutical Biology India.38:353–356, 2000.
- [5] Glime, J. M. and Saxena, D. K., Uses of Bryophytes, Today and Tomorrow Printers and Publishers, New Delhi, India, 1990.
- [6] Dülger, B., Hacıoğlu, N., Uyar, G., Evaluation Of Antimicrobial Activity of Some Mosses From Turkey, Asian Journal of Chemistry, 21, 5, 4093-4096, 2009.
- [7] Vanderpoorten, A. Goffinet, B. Introduction to Bryophytes, Cambridge Universty Press, UK-Newyork, 2009.
- [8] Kara, R., Niğde ve çevresinin karayosunu florası, Yüksek lisans tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde, 2001.
- [9] Savaroğlu, F. Kütahya yöresi karayosunlarını taksonomik ve ekolojik özellikleri, Yüksek lisans tezi, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 1996.
- [10] <http://dogaokulu.net/notlar/2008/karayosunlari.pdf> (Erişim tarihi:30-06-2010)
- [11] Altuner E.M., Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi, Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü, 2008.
- [12] Ezer, T., Güney Amanos dağları (Musa dağı) biryofit florası ve epifitik biryofit vejetasyonunun araştırılması, Doktora tezi, Çukurova Ü.F.B enstitüsü, Adana, 2008.
- [13] Kırmacı, M., Denizli Dağları (Babadağ, Honaz Dağı) biryofit florası, Doktora tezi, Adnan Menderes Ü.F.B Enstitüsü, 2007.
- [14] Newton, A.E. Tangney, R.S. Pleurocarpous Mosses Systematics and Evolution, CRC Press, London- Newyork, 2007.
- [15] http://microview.org.uk/millennium/Pages/about_moss.htm (Erişim tarihi: 03-07-2010)

- [16] Canlı, K., Orman Mühendisliği Odası Yayın Organı, 1301-5372, 46, 7-8-6 , 2009
- [17] Uğur, A. , Özden, B. , Saç, M.M. ,Yener, G., Altınbaş, Ü. , Kurucu, Y. , Bolca, M., Yatağan termik santral etrafından toplanan liken ve Karayosunu örneklerinde 210po ve iz elementler arasındaki korelasyonun incelenmesi, Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir.
- [18] Basile, A., Giordano, S., Sorbo, S., Vuotto, M.L., Ielpo, M.T.L. , Cobianchi, R.C., Antibiotic Effects Of *Lunularia cruciata* (Bryophyta) Extract, Pharmaceutical Biology, 36, 1, 25-28, 1998.
- [19] Basil, A., Vuotto, M.T., Ielpo, M.T.L., Moscatiello, V., Ricciardi, L., Giordano, S., Cobianchi Castaldo ,R., Antibacterial Activity in *Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card. Extract (Bryophyta), Phytotherapy Research, 12, 146-148, 1998.
- [20] Basile, A., Sorbo, S., Giordano, S., Lavitola, A., Cobianchi Castaldo, R., Antibacterial Activity in *Pleurochaete squarrosa* Extract (Bryophyta) International Journal of Antimicrobial Agents, 10, 169-172, 1998.
- [21] İlhan, S., Savaroğlu, F., Çolak, F., (İşcen) Filik, C., Erdemgil, F. Z., Antimicrobial Activity of *Palustriella commutata* (Hedw.) Ochyra Extracts (Bryophyta) , Turk J Biol 30, 149–152, 2006.
- [22] Scher M.J., Speakman J.B., Zapp J., Becker H., Bioactivity guided isolation of antifungal compounds from the liverwort *Bazzania trilobata* (L.) S.F., Gray Phytochemistry, 65, 2583–2588 , 2004.
- [23] www.istanbul.edu.tr/fen/notlar/1260042107.ppt (Erişim tarihi: 30-07-2010)
- [24] <http://www.genbilim.com/content/view/3904/75/> (Erişim tarihi: 30-07-2010)
- [25] Oskay, D., Oskay, M., Bitki Sekonder Metabolitlerinin Biyoteknolojik Önemi, e-Journal of New World Sciences Academy, 4, (2), 31-41, 2009.
- [26] Shaw, A.J., Goffinet B., Bryophyta Biology Published By Syndicate Of The Universty Of Cambridge, 153–169, 2000.
- [27]<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/DosyaGoster.aspx?DIL=1&BELGEANAH=2835&DOSYASIM=943105010.pdf> (Erişim tarihi:31-07-2010)
- [28] http://tr.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli (Erişim tarihi:31-07-2010)
- [29] <http://www.food-info.net/tr/bact/bacer.htm> (Erişim tarihi: 31-07-2010)
- [30] Kaleli D., Özkaya-Durul F. Ankara Üniv. Gıda Mühendisliği Bölümü <http://www.orlab.net/mikrobiyoloji/210011801.pdf>(Erişim tarihi: 31-07-2010)
- [31] <http://www.mikrobiyoloji.org/genelpdf/942124051.pdf> (Erişim tarihi:31-07-2010)
- [32] <http://www.food-info.net/tr/bact/staur.htm> (Erişim tarihi:31-07-2010)

- [33] Arıdoğan, A., Atasever, L., Bal, ., Klinik örneklerden izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotiklere dirençleri Türk Mikrobiyol Cem Derg 34:20-23, 2004.
- [34] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Stafilokoklar> (Erişim tarihi:31-07-2010)
- [35]<http://www.mikrobiyoloji.org/TR/Genel/DosyaGoster.aspx?DIL=1&BELGEANAH=3621&DOSYASIM=942122061.pdf> (Erişim tarihi: 31-07-2010)
- [36] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Salmonella> (Erişim tarihi: 31-07-2010)
- [37] Bilgehan, H Klinik Mikrobiyoloji, zel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları, Barış Yayınları Fakülteler Kitapevi, 10. Baskı 361-362 İzmır–2000.
- [38] http://tr.wikipedia.org/wiki/Bacillus_subtilis (Erişim tarihi:31-07-2010)
- [39] http://tr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa (Erişim tarihi:01-08-2010)
- [40] Gl M., şensoy A., etin B., Korkmaz F., Seber E., Hastane İnfeksiyonu Etkeni *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarında Seftazidime Duyarlılığın E-Test ve Disk Diffüzyon Yöntemleri İle Araştırılması, Türk Mikrobiyol cm Drg 34:33-36, 2004.
- [41] http://tr.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans (Erişim tarihi: 01-08-2010)
- [42] http://tr.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae (Erişim tarihi:01-08-2010)
- [43]] Hill, M. O., Bell, N. Bruggeman-Nannenga, M. A. Bruges, M.Cano, M. J. J. Enroth, Flatberg, K. I. Frahm, J. P. Gallego, M. T.Garilleti, R. Guerra, J. hedenas, L., Holyoak, D. T. Hyvonen, J. Ignatov, M., Lara, S. F. V. Mazimpaka, Munoz, J.Soderstrom, L. Bryological Monograph An annotated checklist of the mosses of Europe and Macaronesia, J. Bryol., 28: 198-267., 2006.
- [44] Yuvalı elik, G., *Pseudomonas* cinsi bakterilerin bazı metabolik aktivite, antimikrobiyal etki ve protein profillerinin incelenmesi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2005.
- [45] elik, E., *Thymus sp.* ve *Agrimonia eupatoria* bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi, 2006.
- [46] Dulger, B., Yayintas, Tonguc ., Gonuz, A., Antimicrobial activity of some mosses from Turkey, Fitoterapia, 76, 730-732, 2005.
- [47] Colak, E., Kara, R., Ezer, T., elik Yuvalı, G., *Leucodon sciuroides* (HEDW.) SCHWAGR. (Bryopsida) ztnn antibakteriyal ve antifungal etkisi, P95, Ekoloji 2010 sempozyumu, 2010.
- [48] Veljic, M., Duric, A., Sokovic, M., Cirić, A., Glamoclija, J., and Marın, P.D., Antimicrobial activity of methanol extracts of *Fontalis antipyretica*, *Hypnum*

cupressiforme, and *Ctenidium molluscum*, Arch. Biol. Sci., Belgrade, 61 (2), 225-229, 2009.