



GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DERMATOCARPON MINIATUM (L.) W. MANN (VERRUCARIACEAE) VE
XANTHOPARMELIA CONSPERSA (EHRH. EX ACH.) (HALE) (PARMELIACEAE)
LİKENLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ZEYNEP KARAAHMET

TEMMUZ 2017

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DERMATOCARPON MINIATUM (L.) W. MANN (VERRUCARIACEAE) VE
XANTHOPARMELIA CONSPERSA (EHRH. EX ACH.) (HALE) (PARMELIACEAE)
LİKENLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

ZEYNEP KARAAHMET

TEMMUZ 2017

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün Onayı.

.../.../...

Prof. Dr. Başak TAŞELİ

Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak BİYOLOJİ Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. İhsan AKYURT

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve Yüksek Lisans tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Kadir KINALIOĞLU

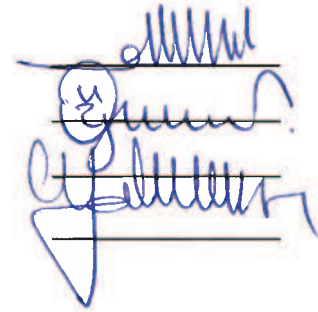
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Kadir KINALIOĞLU

Prof. Dr. Öznur ERGEN AKÇİN

Doç. Dr. Emine YALÇIN



ÖZET

DERMATOCARPON MINIATUM (L.) W. MANN (VERRUCARIACEAE) VE
XANTHOPARMELIA CONSPERSA (EHRH. EX ACH.) (HALE)
(PARMELIACEAE) LİKENLERİNİN ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

KARAAHMET, Zeynep

Giresun Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Kadir KINALIOĞLU

TEMMUZ 2017, 56 sayfa

Dermatocarpon miniatum ve *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinden elde edilen etanol ve aseton ekstraktlarının disk difüzyon yöntemi ve Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) yöntemleri ile antimikrobiyal aktiviteleri incelendi.

Ayrıca, DPPH radikali süpürme aktivitesi, ABTS radikali süpürme aktivitesi, metal şelatlama aktivitesi, toplam antioksidan kapasitesi, toplam fenolik ve flavonoid içeriklerinin belirlenmesi yöntemleri kullanılarak liken ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri de değerlendirildi.

Kullanılan tüm ekstraktlar *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* dışındaki diğer tüm bakterilere değişik oranlarda antimikrobiyal etki gösterdi. Çalışılan liken türlerinin antimikrobiyal etkinlikleri kıyaslandığında *X. conspersa* likeninin *D. miniatum* likenine oranla daha aktif olduğu sonucuna varılmıştır.

Çalışılan liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi *X. conspersa* etanol ekstraktı > *D. miniatum* aseton ekstraktı > *D. miniatum* etanol ekstraktı > *X. conspersa* aseton şeklinde artmaktadır.

Çalışılan liken ekstraktları oldukça zayıf metal şelatlama aktivitesi göstermiştir.

Çalışmalar sonucunda her iki liken türünün de antimikrobiyal ve antioksidan aktivite sergilediği görüldüğünden bu iki likenin de alternatif bir antimikrobiyal ve antioksidan kaynağı olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Liken, Antimikrobiyal Aktivite, Antioksidan Aktivite, Antibiyotik.



ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES
OF *DERMATOCARPON MINIATUM* (L.) W. MANN (VERRUCARIACEAE) VE
XANTHOPARMELIA CONSPERSA (EHRH. EX ACH.) (HALE)
(PARMELIACEAE) LICHENS

KARAAHMET, Zeynep

GiresunUniversity

Graduate School Of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, Master Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Kadir KINALIOĞLU

JULY 2017, 56 pages

Antimicrobial activities of ethanol and acetone extracts of *Dermatocarpon miniatum* and *Xanthoparmelia conspersa* lichens were investigated by disc diffusion and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) methods.

Antioxidant activities of the extracts were evaluated by using DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity, metal chelating activity, total antioxidant capacity, total phenolic content and total flavonoid antimicrobial effect against all bacteria except for *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. When compared antimicrobial efficiency of the tested lichens, it is concluded *X. conspersa* lichen is more active than *D. miniatum* lichen.

DPPH radical scavenging activity of the extracts are increased in the following order: *X. conspersa* ethanol extract > *D. miniatum* acetone extract > *D. miniatum* ethanol extract > *X. conspersa* acetone extract.

Studied lichen extracts showed relatively weak metal chelating activity.

It is concluded that *D. miniatum* and *X. conspersa* lichen extracts can be alternative antimicrobial and antioxidant agents because they exhibit antimicrobial and antioxidant activities.

Key Words: Lichen, Antimicrobial Activity, Antioxidant Activity, Antibiotic.

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam boyunca değerli bilgi, birikim tecrübeleri ile bana destek olan kıymetli danışman hocam sayın Doç. Dr. Kadir KINALIOğLU'na çok teşekkür eder saygılara sunarım.

Çalıőmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Arő. Gör. Sinem AYDIN'a teőekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca maddi manevi destekleriyle her zaman yanımda olan anneme, babama ve eőime de sonsuz teőekkürler ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	II
ABSTRACT.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	X
1.GİRİŞ	1
1.2. Likenlerin Antimikrobiyal Aktiviteleri.....	13
1.2. Likenlerin Antioksidan Aktiviteleri	16
1.3. Çalışmanın Amacı.....	19
2. MATERYAL VE METOT.....	20
2.1. MATERYAL.....	20
2.1. 1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	20
2.1.3. Liken Materyalleri.....	20
2.1.4. Likenlerin Toplandığı Lokaliteler	21
2.1.5. Test Bakterileri.....	22
2.2. METOD	22
2.2.1. Liken Ekstraktlarının Hazırlanışı	22
2. 2.2. Liken Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	23
2.2.2.1. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	23
2.2.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi (MİK).....	23
2.2.3. Liken Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi.....	23
2.2.3.1. Toplam Fenolik İçeriği	23
2.2.3.2. Toplam Flavanoid İçeriği.....	24
2.2.3.3. Metal Şelatlama Aktivitesi.....	24
2.2.3.4. ABTS Radikali Süpürme Aktivitesi	24
2.2.3.5. Toplam Antioksidan Kapasitesi	25
2.2.3.6. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi.....	25

2.2.4. İstatistiksel Analiz.....	25
3. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
3.1. Antimikrobiyal Aktivite.....	27
3.2. Antioksidan Aktivite.....	33
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	40
5. KAYNAKLAR.....	44
6. ÖZGEÇMİŞ.....	56



TABLULAR DİZİNİ

TABLO

Tablo 1.1. Liken sekonder metabolitlerinin başlıca sınıfları	9
Tablo 2.1. Liken ekstratlarının oluşturduğu inhibisyon zonları.....	28
Tablo 3.2. Liken ekstratlarının MİK değerleri	30
Tablo 3.3. Liken ekstratlarının toplam fenolik içerikleri	33
Tablo 3.4. Liken ekstratlarının toplam flavonoid içerikleri	34
Tablo 3.5. Liken ekstratlarının toplam antioksidan kapasiteleri	35
Tablo 3.6. Liken ekstratlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi	37
Tablo 3.7. Liken ekstratlarının ABTS radikali süpürme aktivitesi	38
Tablo 3.8. Liken ekstratlarının metal şelatlama aktivitesi	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Şekil 1.1. Antioksidanlar ve Serbest Radikaller	17
Şekil 2.1. <i>Dermatocarpon miniatum</i>	21
Şekil 2.2. <i>Xanthoparmelia conspersa</i>	22
Şekil 3.1. Liken ekstraktlarının <i>Salmonella enterica</i> (a) <i>Bacillus cereus</i> (b) <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> (c), suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri	31
Şekil 3.2. Liken ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> (d), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (e), <i>S. enterica</i> (f) suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri.....	32
Şekil 3.3. Liken ekstraktlarının <i>Enterobacter aerogenes</i> (g), <i>Bacillus megaterium</i> (h), <i>Proteus vulgaris</i> (ı), <i>Bacillus subtilis</i> (i) ve <i>Gordonia rubripertincta</i> (j) suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri	32
Şekil 3.4. Gallik asit standart eğrisi	33
Şekil 3.5. Kateşin standart eğrisi.....	34
Şekil 3.6. Askorbik asit standart grafiği.....	35

SİMGELER DİZİNİ

°C	Santigrat derece
g	Gram
Mg	Miligram
µg	Mikrogram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
%	Yüzde
Nm	Nanometre
Mm	Milimetre

KISALTMALAR

ATCC	American Type Culture Collection
MHB	Müller Hinton Broth
MHA	Müller Hinton Agar
MİK	Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu
ABTS	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzenothiazoline-6-sülfonik asid)
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
GAE	Gallik Asit Ekvivalenti
QE	Kateşin Ekvivalenti
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EDTA	Etilen DiaminTetra Asetik Asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri

1. GİRİŞ

Tıbbi bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanılmaları galiba insanlık tarihine kadar uzanmaktadır. Bitkiler antik çağdan beri sağlık uygulamaları ve hastalık tedavilerinde güvenli ve önemli yer tutmaktadır. Tıbbi bitkiler insan sağlığının en önemli kısmını oluşturmaktadır. Onlar, geleneksel ve modern ilaçların değerli hammaddelerini oluşturmalarının yanında önemli tedavi edici ajanlar olarak ta görev yapmaktadırlar (1).

Gelişmiş ülkelerin çoğunda geleneksel ilaçlar sağlık uygulamalarının dayanak noktasını oluşturmaktadır ve bu ülkelerin insanları ilaç ve kürlerin çoğunu bitki gibi doğal kaynaklardan sağlamaktadır (1).

Bugün Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, insanların % 80 kadarı ana sağlık gereksinimleri için geleneksel tıpa bağlıdır (2).

Eski medeniyetler incelendiğinde tıbbın her zaman popüler ve insanlığın hizmetinde olmuş bir bilim dalı olduğu görülmektedir (3, 4).Örneğin tıbbın babası olarak bilinen Hipokrat'ın eserlerindeki drogların sayısı 400 kadar olup, onların büyük bir kısmını bitkisel kökenli droglar oluşturduğu bilinmektedir (3, 5). Yine bir islâm bilgini olan İbn-i Sina'nın (M.S. 980-1037) Tıbbın Kanunu adlı eseri tüm zamanların en büyük klasiği olarak tarihte yerini almıştır (6)

20. yüzyıldaki bilinen ilaçların % 40'ından çoğu bitkisel kökenli olmasına karşın, bu sayı 1970'li yıllarda % 5'in altına gerilemiştir. (7).

Bu gün gelişmiş ülkelerdeki tıbbi ilaçların yüzde 25'i bitkiler ve bunların türevlerinden elde edilmektedir (2).

1980 ve 1990'lı yıllarda tüketicilerin sağlık hakkında daha fazla bilgi edinmeleri, tıbbi ve aromatik bitkiler üzerine yapılan araştırmalar, tıbbi ve aromatik bitkilere olan ilgiyi yeniden artırmıştır. Bu durum bitkisel ilaçlar ile ilgili yasa ve yönetmeliklerin yeniden ciddi bir şekilde incelenmesine yol açmıştır (7, 8).

Son zamanlarda tıbbi bitkiler ve onlardan elde edilen aktif bileşenlerle ilgili araştırmalar ve onlara olan talebi artmıştır. Bunun başlıca nedenleri aşağıda verilmektedir:

-Yeterince gelişmiş kimya endüstrisi bulunmayan gelişmekte olan ülkelerin, bitkilerden kolay ve ucuz tedavi imkanı elde etme istekleri

-Tedavi sahasına giren yeni yapay bileşiklerin bazılarının oluşturduğu tehlikeli yan etkiler.

-Bazı ilkel ilaç maddelerinin bitkisel droglardan sentetik olanlara oranla daha kolay ve ucuza elde edilebilme olanaları.

-Bitkisel drogların birden fazla etkiye sahip olmaları (9).

Bitkilerin kolay ve ucuz bir tedavi imkanı sağlamaları, sentetik ilaçlar gibi tehlikeli yan etki yapmamaları gibi nedenler onların önemini daha çok artırmıştır. Ancak geleneksel olarak faydalanılan bazı bitkilerin yoğun şekilde kullanılması sebebiyle, bu bitki türleri gün geçtikçe yok olmakta ve doğal kaynakların sürdürülebilir kullanımını bilim adamlarınca müzakere edilmektedir (10).

Tıbbi bitkilerin mutajenik, sitotoksik ve kimyasal özelliklere sahip olmaları, onlarla ilgili çok sayıda çalışma yapılmasını sağlamıştır. Fitoterapi tedavi amacıyla bitkilerden yararlanmaktadır. İlk defa fitorepayi kullanan Fransız hekim Henri Leclerc (1870–1955) göre fitorepi; bitkisel droglarla ve ekstraksiyon ürünleriyle hastalıkların iyileştirilmesidir (3).

Tıbbi bitkilerden elde edilen ilaçlar bu gün değişik isimlerle (bitkiseller, bitkisel ilaçlar, fitoterapötikler, fitofarmasötikler ve geleneksel ilaçlar v.b.) adlandırılmaktadır. Fakat son yıllarda Avrupa Birliği devletlerinde ortak bir kavram kullanmak gayesiyle EMEA (Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı) tarafından bu tip ürünlere “Herbal Medicinal Products” (Tıbbi Bitkisel Ürünler) kavramı kullanılması uygun görülmüştür (11, 12).

Tıbbi Bitkisel Ürünler en basitiyle řu şekilde tanımlanmaktadır; Bitki ya da bitkinin farklı kısımlarının, dolaylı olarak ya da değerik işlemlerden geçirildikten sonra ticarete sunulan tıbbi ürünler veya farmasötik preparatlarıdır. Hastalıkları tedavi

etmek, şiddetini azaltmak, hastalıklardan korunmak veya teşhis amacıyla yararlanılmaktadır (12).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de bitkilerden halk arasında çeşitli amaçlarla yararlanılmaktadır (3, 13).

Tarih öncesi dönemden itibaren Mezopotamya, Eski Mısır, Hitit, Yunan, Roma, Selçuklu ve Osmanlılar bitkilerden ilaç olarak yararlanmışlardır. Cumhuriyet Dönemi'nde de halk tıbbı çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Anadolu'da Yontmataş döneminden bu yana bitkilerden tedavi gayesiyle faydalandığı ve yaklaşık 50.000 yıldan buyana onlardan değişik maksatlarla yararlandığı belirtilmektedir (7, 14).

Türkiye coğrafik yapısı, iklim ve bitki biyoçeşitliliği, tarımsal alanındaki potansiyeli, geniş yüzölçümü sebebiyle tıbbi ve aromatik bitki ticaretinde önde gelen ülkelerden birtanesidir. Bu durumun nedeni, gelişmiş ülkelerdeki yerleşmiş bitkisel ilaç, bitki kimyasalları, gıda ve katkı maddeleri, kozmetik ve parfümeri sanayilerinin hammaddesini oluşturan çoğu bitkisel ürünü sağlayan bitkilerin ülkemiz florasında mevcut olmasından kaynaklanmaktadır. Türkiye'de yayılış gösteren tıbbi ve aromatik bitkiler daha çok Ege, Marmara, Akdeniz, Doğu Karadeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde bulunmaktadır (10).

Asya ile Avrupa'yı bir köprü gibi birbirine bağlayan Anadolu yüzyıllardan beri bitkisel ilaç ve baharat ticaretinde büyük rol oynamaktadır. Değişik kaynaklarda Anadolu'da ilaç aktif maddesi olarak kullanılan bitki ve bitki kısımları ticaretinin çok eski çağlardan bu yana yapıldığı belirtilmektedir (7, 15).

Ülkemizde tıbbi olarak kullanılan bitkilerin kesin sayısı tam olarak bilinmemekle beraber, yaklaşık 500 kadar olduğu tahmin edilmekte (7, 9, 16, 17).

Dioskorides'in ilk farmakope kabul edilebilecek De Materia Medica adlı eserinde, 500 tıbbi bitkinin ve bu bitkilerden hazırlanan ilaçların kullanımı ile ilgili kapsamlı bilgiler bulunmaktadır. Bu eserde bulunan bitki türlerinin çoğu Anadolu'da yetişmektedir (7, 9).

Likenlerle ilgili bilimsel manadaki bilgiler ilk defa XV. yüzyılda verilmeye başlanmıştır. Bu yüzyılda insan kafatası iskeleti üzerinde gelişen bir tür liken, epilepsi tedavisinde kullanılmış ve kullanılan kişide iyileşme baş gösterdiğinden çok değerli kabul edilmiştir (18, 19).

Likenler alg, mantar bazen da siyanobakterilerin birleşmesi sonucu meydana gelen simbiyoz yaşamın olağan dışı organizmalarıdır. Likenlerin ancak % 10 kadarı (örneğin, *Collema* F.H. Wigg. ve *Leptogium* M. Choisy) siyanobakteri içermektedir (20).

Bazı likenolojistler likenlerin simbiyoz yaşamın en iyi örneklerinden biri olduğunu belirtmektedir. Öte yandan bazı likenolojistler fikobiontun mikobiontun kontrolü altında olduğunu, bazıları ise likendeki mantarın alg üzerinde parazit yaşadığına inanmaktadır (21).

Likenler dış görünüşlerine göre; Foliose (yapraksı), Crustose (kabuksu), Fruticose (dalsı), Placodioid (merkezde kabuksu kenarlarda lobsu), Squamulose: (pulsu, lobcuklu), Leprose (granular) ve Filamentous (ipliksi, saç benzeri) olarak adlandırılmaktadır (22).

Likenlerin 20.000 kadar türünün bulunduğu bilinmektedir.

Türkçe’de likenlere Ciğer Otu, Taş Yosunu, Ağaç Yosunu, Meşe Yosunu gibi birbirinin yerine kullanılan isimler verilirken, eski eserlerde liken teriminin karşılığı olarak Arapça Hazaz, Şeyb ve Uşne terimlerinin kullanıldığı belirtilmektedir (23).

Geniş ekolojik hoşgörülüğe sahip olan likenler, dünyada deniz seviyesinden dağ zirvelerine, sıcak çöllerden soğuk kutup bölgelerine (Arktik ve Antartik) kadar hemen hemen her yerde yayılış göstermektedirler. Buna rağmen onların dünyanın her tarafında bulunduğu söyleyemeyiz. Arktik ve Antartik’te bulunurlar, ancak buz üzerinde gelişemezler. Yine bazı liken türleri kumda gelişebilmektedir ancak yer değiştiren yüksek kum tepelerinde gelişemezler. Likenler karasal ekosistemlerin yaklaşık olarak % 8’ini kaplamaktadır (24).

Kuzey yarımkürede geniş alanlar kaplayan kuzey ormanlarında gelişme gösteren ren geyiği likenleri (örneğin, *Cladonia rangiferina* (L.) F. H. Wigg.) ve *Stereocaulon* Hoffm. türlerinin bu ormanlarda kapladıkları alanların % 90'a kadar ulaştığı bilinmektedir (25).

Likenler kaya, taş, çakıl, kiremit, tuğla, beton, çimento, demir, harç, plastik, toprak, odun, ağaç kabukları, dalları, yaprakları, ot, eğrelti, karayosunu, çeşitli hayvanlar ve diğer likenler üzerinde gelişebilen organizmalardır (24).

Likenler kayalara yerleşen organizmaların tipik olanlarından. Bu yüzden onlar pirimer süksesyonun öncü (piyonir) bitkilerini oluştururlar (26).

Likenlerin kayalar üzerine yerleşme sırası klasikleşmiştir. Sırası ile kabuksu türleri yapraksı türler, yapraksı türleride dalsı türler izlemektedir. Oysa genç ağaç kabukları ve genç dallar üzerinde ilk olarak yapraksı ve dalsı likenler daha sonra da kabuksu likenler gelişir (25).

Likenlerin oldukça düşük sıcaklıklarda dahi fotosentez yapabildikleri rapor edilmiştir. Bazı liken türleri -20 °C'de dahi fotosentez yapabilmektedir (21).

Likenlerin büyük bir kısmı kurak ve soğuk çevre şartlarına karşı çiçekli bitkilerin çoğundan çok daha fazla dayanabilirler (27).

Bazı türlerin -183 ve -268 °C kadar düşük sıcaklıklara birkaç saat maruz bırakıldıktan sonra normal hayatlarına yeniden devam ettikleri görülmüştür (28).

Peltigera aphthosa (L.) Willd. likeninin ekstrem kuraklık şartlarda 40 hafta kadar hayata kalabildiği görülmüştür (27).

Likenler bu dayanıklılık durumunu büyük ölçüde yapılarında bulunan poliyol (örneğin, sorbitol, ribitol, erythrol) ve poliamin (örneğin, daimin, 1,3 diaminpropan, heksametilendiamin) maddelerinin konsantrasyonları ile kuruma esnasında liken proteinlerinin yapısal bütünlüğünü koruyarak gerçekleştirirler (29).

Likenler poikilohidrit (aktif olarak kendi su içeriklerini düzenleyemeyen, su statüleri çevre şartlarına bağlı olan) organizmalardır (30).

Likenlerin kök sistemleri yoktur ve genellikle besince fakir ortamlarda gelişirler. Çoğu liken türü suyu direkt olarak üst yüzeyleri ile yağmurdan, çiyden ve sisden almaktadır. Bu yüzden yavaş büyüme oranlarını sürdürebilmeleri için ihtiyaç duydukları besinleri büyük oranda atmosferden üst yüzeyleriyle almaktadırlar (21). Bazı liken türleri ise hem alt yüzeyleri ile hemde üst yüzeyleri ile su alabilmektedir (31).

Likenler kuru şartlarda % 15-30 kadar su içermektedir ve bu şartlarda metabolik olarak inaktiftirler (dormant haldedirler). Bu inaktif devre hayatta kalmak için onlara imkan sağlar ve bu durum beklide birkaç ay sürebilir (21).

Bu organizmalar yavaş büyümeleri ile bilinmektedirler. Onların en hızlı büyüme oranları dahi çiçekli bitkilerin büyüme oranlarına göre oldukça yavaştır.

Likenlerin büyümeleri daha çok radyal büyümelerine göre ölçülmüştür. Kirli olmayan alanlardaki likenlerde ölçülen yıllık radyal büyüme oranları aşağıda verilmektedir (31).

Kabuksu likenler: 0.5-2 mm' ye kadar

Yapraksı likenler: 0.5-4 mm'ye kadar

Dalsı likenler: 1.5-10 mm'ye kadar büyümektedir.

Likenler çok uzun süre bozulmadan kalabildiğinden bazıları 4500 yıldan daha fazla yaşayabildiği tahmin edilmektedir (32).

Siyanolikenlerin yapısında bulunan siyanobakterilerin besinlerini sağlamak için havadan azot fiske ettikleri bilinmektedir (33).

Likenler değişik şekillerde kullanılmaktadır; besin olarak, dekorasyon işlerinde, kozmetikte, kamuflaj malzemesi olarak, kuşların yuva yapma materyali olarak, alkol kaynağı olarak, kına olarak, hava kirliliğinin indikatörü olarak, boya maddesi olarak, tıbbi olarak, zehir olarak ve giysi olarak (34).

Likenlerin tamamı kimyasal bileşikler bakımından oldukça zengindir. Hiçbir kimya deneyimi olmayan bir kişi dahi bu gerçeği açıkça görebilir. Likenlerde bulunan renk görkemine bakıldığında; yeşil, sarı, kırmızı, turuncu, kahverengi, beyaz, gri tonlar ve

hatta siyah olanları bile vardır. Bu pigmentler likenlerde bulunan kimyasal bileşiklerin bazılarının örnekleridir. Likenlerde bu renklere daha fazla renksiz bileşikler mevcuttur ve bunları keşfetmek için gözden daha fazlasına ihtiyaç vardır (35).

Likenler tarafından üretilen bileşikler primer (hücre içi) ve sekonder (hücre dışı) metabolitler olmak üzere iki gruba ayrılır.

Primer metabolitleri alg simbiyozu, fotosentezle sentezler, başta glikoz ve mannitol – sorbitol gibi polioller olmak üzere, likenin ve izolikenin gibi likenlere has polioller üretilir (36).

Amino asitler, proteinler, vitaminler ve polisakkaritler primer metabolitlere örnektir. Primer metabolitlerin çoğu likenlere özgü olmayıp, likenleşmemiş mantar ya da diğer organizmalarda da bulunurlar (35).

Primer metabolitlerden bazıları mikobiyont bazıları ise fikobiyont tarafından üretilir, fakat özel bir bileşiğin üretiminden sorumlu partnere karar vermek her zaman kolay değildir (35).

Primer metabolitlerin çoğu suda çözünüp ve kaynamış suda ekstrakte edilebilmelerine karşın sekonder metabolitler genellikle suda çözünmeyip sadece organik çözücülerle ekstrakte edilebilirler (35).

Likenler çok değişik sekonder metabolitler üretmektedir ve bu maddelerin çoğu likenleşmiş funguslara hasdır. Onlar mikobiyont tarafından üretilir ve kortekste (örneğin, physodik asit, physodalik asit ve protosetrarik asit) ya da hücre dışı küçük kristaller olarak medulla tabakasının dış yüzeyindeki hifler üzerinde birikirler. Fikobiyont'unda mikobiyontun sekonder metabolizması üzerinde etkisi olduğu belirtilmektedir (37). Bilindiği gibi liken birliğinde fikobiyont mikobiyonta karbonhidrat sağlamaktadır. Mikobiyont da bu karbonhidratı kullanır kullanmaz geri dönüşümü olmayan bir yapıya metabolize etmektedir (37).

Likenler doğal olarak yaklaşık 800 farklı sekonder metabolit üretmektedir (38). Bu oran Stocker-Wörgötter (39)'e göre 1050 dir, ancak kültür ortamında sentezlenen sekonder metabolitlerde bu sayıya dahildir.

Detaylı çalışmalar sonucunda ve özellikle tropikler gibi iyi araştırılmamış bölgelerde tespit edilecek yeni liken türlerinde kesinlikle yeni liken metabolitleri keşfedilecektir. Dahası, analitik tekniklerdeki gelişmeler liken sekonder metabolitlerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili daha detaylı sonuçlar verecektir (37).

Ramagni ve Dyan (40)'a göre sekonder metabolitler genellikle liken tallusu kuru ağırlığının % 5-10 kadarını oluşturmasına karşın bu oran bazen tallus kuru ağırlığının % 20'si kadarına ulaşabilmektedir.

Diğer taraftan bazı kaynaklarda ise bu maddelerin çoğunlukla tallus kuru ağırlığının % 0.1-10 kadarını, bazende % 30 kadarını oluşturduğu bildirilmektedir (37).

Sekonder metabolitlerin tipi ve miktarı, farklı ekolojik ve coğrafi şartlarda, farklı türleride aynı türün değişik talluslarında ve hatta aynı tallusun farklı kısımlarında bile değişmektedir. Örneğin bu maddeler bazı türlerde sadece apotesyum ya da soredlerde bulunur (35).

Hyvarinen ve arkadaşları (41)'e göre bazı liken türlerinin generatif yapılarındaki sekonder bileşiklerin miktarı, tallusun vejetatif kısımlarındakinden daha yüksektir.

Bazı liken türleri yalnızca birkaç sekonder metabolit üretirken (fikobiontu siyanobakterileri olan bazı kabuksu likenler gibi) bazıları çok sayıda sekonder metabolit üretmektedir. Örneğin *Pseudocyphellaria* Vain. cinsinin *Pseudocyphellaria glaucescens* (Kremp.) Imshaugve *Pseudocyphellaria rubella* (Hook. f. & Taylor) D.J. Galloway & P. James türlerinin her biri 20'den fazla metabolit sentezlemektedir (35).

Likenlerde mevcut olan sekonder metabolitlerin çoğu poliketid metabolik yolundan (asetil-polimalonil metabolik yolu olarak da adlandırılır), birkaçı ise şikimik asit ve

mevalonik asit metabolik yollarından oluşmaktadır. Önceki çalışmalar paradesidlerin, meta-depsidler, depsonlar, difenil eterler, depsidonlar ve dibenzofuranlaraprekürsör (ana maddeyi oluşturan öncü madde) olduklarını göstermiştir (42, 43).

Bilinen yapıları ve metabolik yollarını baz alarak liken maddelerinin ilk sınıflandırılmasını Asahina ve Shibata yapmıştır (44). Bu sınıflandırma pek çok kez modifiye edilmiştir ve en yakın zamandaki versiyonu Tablo 1.1’de özetlenmiştir.

Tablo 1.1. Liken sekonder metabolitlerinin başlıca sınıfları (43).

Biyosentetik kökeni	Kimyasal sınıfı	Örneği
Poliketid	Depsidler	Lekanorik asit
Poliketid	Depsonlar	Pikrolikenik asit
Poliketid	Depsidon	Fisodik asit
Poliketid	Dibenzofuranlar	Pannarik asit
Poliketid	Usnik asitler	Usnik asit
Poliketid	Kromonlar	Sordinon, Ögenitin
Poliketid	Ksantonlar	Likeksanton
Poliketid	Antrakininon	Emodin
Mevalona	Diterpenler	16- α -hidroksikauran
Mevalona	Triterpenler	Zeorin
Mevalona	Steroidler	Ergosterol

Tablo 1.1.'in devamı

Şikimat	Terfenilkinonlar	Poliporik asit
Şikimat	Pulvinik asit	Pulvinik asit

Liken sekonder metabolitleri liken taksonları için çoğunlukla spesifik olduğundan liken sistematigi ve taksonomisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (42,45,46).

Tarihsel olarak dünya da kullanılan ilaçların büyük bir kısmı bitki ve mantarlardan elde edilmektedir. Aspirinin yapısında aktif madde olarak bulunan salisilik asit Söğüt (*Salix L.*) bitkisinden elde edilmektedir. Yine penisilin gibi önemli antibiyotikler mantarlardan elde edilmektedir. Likenler, ilaç araştırmalarında kullanılabilen bir başka potansiyel organizma tipidir (47).

Amerika yerlileri, Hintliler ve Çinliler pek çok hastalığı tedavi etmede likenleri öncelikle ekspektoran olarak geleneksel ilaçlarda kullanmışlardır (43).

Geleneksel tıpta kullanılan likenler daha çok yaraların tedavisinde, deri hastalıklarında, saçların kuvvetlendirilmesinde, idrar yolları ile ilgili sorunlarda, kırılan kemiklerin tedavisinde solunum ve sindirim bozukluklarında, doğum ve jinekolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (19, 48).

Eski çağlarda liken tallusunun dış görünüşü ile hastalık arasındaki benzerlik göz önünde bulundurularak çeşitli tedavi yöntemleri uygulanmıştır. Örneğin; uzun iplikli bir yapıda olan *Usnea barbata* Fr. ve diğer *Usnea* Dill. ex Adans. (sakal likeni) türleri saç dökülmesi ve saç çıkmasında kullanılmıştır (49).

Usnea sp. Çin'de kullanılan geleneksel ilaçların önemli bir kısmını meydana getirmektedir. Dünyada çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek düzeyde antibakteriyal özelliğe sahip olduğu saptanmıştır. Saçları güçlendirmede, burun kanamalarında, yaraların tedavisinde kullanılmaktadır. Yanıkların tedavisinde, yaralarda, deri problemlerinde, spora bağlı sakatlanmalarında da bu likenlerden

faydalanılır. Eski yıllarda çobanlar bu likeni, su toplanmasını engellemek için ayakkabılarının içerisine yerleştirirlerdi. Bu uygulama halen geçerlidir (19).

Hipokrat *Usnea barbata*'yı rahim problemleri için önermiştir. *Usnea longissima* Ach. Çinliler tarafından "sun-lo" adıyla balgam söktürücü olarak kullanıldı. Malayan'lar hala *Usneasp.* türlerini soğuk algınlığı ve kuvvet verici ilaç olarak kullanmaktadır (50).

Retikülat bir tallusa sahip *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. Eskiden akciğer ve verem hastalığı tedavisinde kullanılmışlardır (51). Bu tür günümüzde de akciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Eskiden Kolombiya'da yaşayan Hesquiata halkı bu türü verem hastalıklarının tedavisinde kullanmaktaydı. *Lobaria quercizans* Michaux Astım gibi akciğer hastalıkları ve tüberküloz tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca saçları güçlendirmede ve mide ağrılarının giderilmesinde de kullanılmaktadır. Yine bu liken türünden elde edilen tonik, kan ve dolaşım sistemi için önerilmektedir (19). Diğer taraftan eski yıllarda *Lobaria pulmonaria* genellikle öksürük çayı ya da liken çikolatası formunda laksatif olarak kullanılmaktaydı (50).

Xanthoria (Fr.) Th. Fr. likenin de kullanım alanı oldukça geniştir. Eskiden doktorlar bu likeni sarı renginden dolayı sarılık hastalığı tedavisinde kullanmışlardır. Özellikle *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. geçmiş yıllarda sarılık tedavisinde kullanılan bir türdü. Bu tür çoğu ülkede, böbrek hastalıkları başta olmak üzere pek çok hastalıkta kullanılırdı (örneğin, adet kanamaları ile ilgili sorunlar için şarapla birlikte). Günümüzde yine değişik yörelerde böbrek rahatsızlıklarına, diş ağrılarına karşı kullanılmaktadır (19).

Peltigera Willd.'nin çeşitli türleri değişik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. *P. canina* (L.) Willd. Özellikle eskiden kuduz hastalıklarının tedavi etmek için yapılan ilaçların ana maddesini oluşturmaktaydı (19). Bu gün ise Hindistan'da karaciğer hastalıklarının tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Karaciğer hastalıklarının tedavisinde bu likenin kullanılmasının nedeni yüksek oranlarda metiyonin aminoasiti ihtiva etmesidir (52). *P. britannica* (Gyelnik) Holt.–Hartw. & Tonsb. önceleri tüberküloz hastalığını gidermek için çiğnenirdi. Yine *P. aphyosa* süt içerisinde kaynatılarak ağızda oluşan yaraların tedavisinde kullanılmaktadır (19).

Bryoria Brodo & D. Hawksw. sindirim sistemi rahatsızlıklarında, kanamayı durdurucu olarak ve yükek miktarlarda toplanarak vücut ısısını korumak için kullanıldığı belirtilmektedir. Eskiden yeni doğmuş bebeklerin enfeksiyonunu önlemek için göbeklerine sürülüyordu, bu gün ise sarkma ve pörsümeye karşı kullanılmaktadır (19).

Letharia vulpina (L.) Hue egzama ve ülser gibi deri ve mide hastalıklarında, iltihap kurutmada ve iltihap oluşumunu önlemede etkili olduğu tespit edilmiştir (51). *Parmotrema* A. Massal. cinsinin acı dindirici, ateş düşürücü, kan dolaşımını düzenleyici, kas gevşetici, idrar söktürücü, dizanteride, baş ağrısını gidermede kullanılabilirdiği belirtilmiştir (19, 51).

Parmelia Ach.'nin türleri idrar yolları rahatsızlığında, baş ağrısının giderilmesinde, deri hastalıklarında, karın ağrısı tedavisinde, kan ve kalp hastalıklarının tedavisinde, mide rahatsızlıklarında, diş ağrısı, bronşit hastalıklarının tedavisine kullanılmaktadır (19). Ayrıca *Parmelia saxatilis* (L.) Ach. türünün ise epilepsi tedavisinde kullanıldığı belirtilmiştir (51).

Pertusaria amara (Ach.) Nyl. gibi acı tadı olan bazı liken türleri ateş nöbetleri için, *Pseudeverniafurfuracea* (L.) Zopf ise kanamayı durdurucu olarak, hemaroid tedavisinde kullanılmıştır (51).

Başta *Cetraria islandica* (L.) Ach. olmak üzere *Cetraria* Ach. cinsinin çok sayıda türü oldukça geniş kullanım alanına sahiptir. Günümüzde hala Avrupa'da önemli miktarda ilaç yapılmak üzere satılmaktadır. Bu türün 1944'te resmi olarak pazarlarda satışı yapılan tek liken türü olma özelliğine sahip olduğu belirtilmektedir. Astım, şeker hastalığı, nefrit, boşaltım sistemi hastalıkları tedavisinde kullanılmaktadır. Öksürük ve soğuk algınlığına da iyi geldiği söylenmektedir. Eczanelerde satılan öksürük şurubu gibi söktürücüler ve güçlendirici tonikler bu likenlerden elde edilmektedir. Halen izlanda iskorbiti hastalığı olarak bilinen bir hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (19).

Rocella DC. çocuklarda meydana gelen ateşin düşürülmesinde; *Cladonia* P. Browne'nin farklı türlerinin bağırsak parazitlerinin temizlenmesinde, göğüs ağrılarının giderilmesinde, ateş düşürücü olarak ve öksürük tedavisinde; kabızlığın giderilmesinde kullanılmaktadır (19).

Çalışmamızda kullandığımız türlerden *Dermatocarpon miniatum* türü Çin'de yüksek kan basıncını düşürmede, diüretik olarak, parazit düşürücü, çocuklarda yetersiz beslenme durumlarında, dizenteride, sindirimin düzenlenmesinde ve karın şişliğinin giderilmesinde geleneksel olarak kullanılmaktadır (48).

Çalışmamızı oluşturan diğer liken türü olan *Xanthoparmelia conspersa* ise geleneksel olarak kullanılmaktadır. Bu tür Yılan ısırıklarının, yaralar veya kesiklerin, inflamasyonlu diş etlerinin, frengi yaralarının ve boğaz ağrılarının tedavisinde kullanılmaktadır (48). Ayrıca doğu ve güneydoğu Afrika'da zührevi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (25).

1.1. Likenlerin Antimikrobiyal Aktivite

Günümüzde nezle gibi basit hastalıkların tedavisinde bile antibiyotik tedavisi verilmesi, insan patojeni bakterilerinin mevcut antibiyotiklere direnç geliştirmesine, hatta AIDS, kanser gibi bağışıklık sistemi hastalıklarının tedavilerinin yapılamamasına neden olmaktadır. Bilim adamlarının yeni ve doğal antimikrobiyal etkili ilaçların bulunması için doğaya yönelmesinin nedenlerinden birisi de enfeksiyon hastalıklarına neden olan bakterilerin mevcut antibiyotiklere karşı direnç kazanmasıdır. Bitkiler bakterilere ve funguslara karşı inhibitör etkilere sahip maddeler ihtiva etmektedirler (3).

Farmasötik endüstrisi yeni antibiyotik ajanlar geliştirerek veya mevcut antibiyotiklerde bazı modifikasyonlar yaparak bu problemi çözmeye çalışmıştır. Son 40 senede sadece üç yeni antibiyotik sınıfı geliştirilmiştir ve bunların tamamına yakını yalnızca gram-pozitif bakterilere etki etmektedir. Ayrıca antibiyotik direncinin çok çabuk gelişebildiği bakterilere karşı geliştirilen bu yeni stratejiler, her gün daha da etkisiz hale gelmektedir. Bu durum güncel olarak kullanılan

antibiyotiklerden daha farklı etki mekanizması sergileyecek yeni antibakteriyel ajanların gerektirmektedir (53).

Özellikle son yıllarda, bulaşıcı hastalıklara ve hastane enfeksiyonlarına yol açan birçok mikroorganizmanın, tedavide kullanılan çoğu antibiyotik ajana karşı direnç geliştirmesi, yeni kuşak antibiyotiklerin üretiminin yüksek maliyete neden olması ilaç sektörünü yeni antimikrobiyal özellikli maddeler keşfetmeye zorlamaktadır (54).

Çalışma konumuzu oluşturan likenlerin yapılarında protolikesterik asit, pulvinik asit, fisodik, lobarik, fumarprotosetrarik asitler ile usnik asit gibi antimikrobiyal etkileri saptanmış çeşitli metabolitler bulunmaktadır (55).

Likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili dünyada pek çok çalışma yapılmıştır. Prashith ve arkadaşları (56) *Usnea ghattensis* G. Awasthi likeninin metanol ekstraktının etkisini incelemiş ve *Salmonella typhi* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterilerine karşı aktivite elde edilmiştir.

Devi ve arkadaşları (57) *Roccella belangeriana* D.D. Awasthi likeninin su, metanol, dietil eter, etanol, etil asetat, petroleum eter, kloroform ve aseton ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini incelemişler ve sonuçta en yüksek aktivite *Proteus sp.*'ye karşı elde edilirken, en düşük aktivite *Pseudomonas aeruginosa* ve *Vibrio flurialis*'e karşı elde edilmiştir.

Bisht ve arkadaşları (58) *Peltigera* Willd. ve *Cladonia* sp. türlerinin antibakteriyel aktivitelerini incelemiş ve en yüksek aktivitenin *Peltigera* sp. Türünde elde edildiği belirtmişlerdir.

Hengameh ve Rajkumar (59) *Heterodermia leucomelos* (L.) Poelt, *Cladonia subradiata* (Vainio) Sandst., *Parmotrema tinctorum* (Delise ex Nyl.) Hale, *Leptogium* sp., *Parmotrema crinitum* (Ach.) Choisy, *Herpothallon* Tobler, *Parmotrema reticulatum* (Taylor) M. Choisy ve *Ramalina celastri* (Sprengel) Krog & Swinscow likenlerinin hekzan, etil asetat, metanol ve etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmiştir.

Dharmadhikari ve arkadaşları (60) *Parmelinella simplicior* (Hale) Elix & Hale likeni ekstraktlarının ve bu likenden izole edilmiş mikobiyontun *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans*'a karşı etkili olduklarını ortaya koymuştur.

Abuiraq ve arkadaşları (61) *Xanthoria parietina*, *Physconia* Poelt ve *Tornabenia atlantica* (With.) J. R. Laundon likenlerinin su, etanol ve metanol ekstraktlarının gram pozitif bakteriler üzerinde gram negatif bakterilere oranla daha etkili olduğunu saptamıştır. Ayrıca aynı araştırmacılar aynı aynı likenlerin metanol ekstraktlarının su ekstraktlarına oranla daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Ülkemizde de likenlerin antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili bir çok çalışma gerçekleştirilmiştir. Örneğin, Sesal ve arkadaşları (62) *Ramalina canariensis* J. Steiner, *Ramalina chondrina* J. Steiner, *Ramalina fastigiata* (Pers.) Ach., *Ramalina fraxineae* (L.) Ach. likenlerinin metanol ve kloroform ekstraktlarının antibakteriyal aktivitelerini incelemiş ve gram negatif bakteriler üzerinde kloroform ekstraktının daha etkili olduğunu belirtilmişlerdir.

Albayrak ve arkadaşları (63) tarafından yürütülen bir çalışma sonucunda *Tornabea scutellifera* likeninin metanol ekstresinin *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus brevis* ve *Bacillus cereus*'a karşı aktif olduğu sonucuna varmışlardır.

Yılmaz ve arkadaşları (64) *Hypogymnia tubulosa* (Schaerer) Hav. likeninin dietil eter, aseton, kloroform, petrol eteri ve etanol ekstraktlarının ve bu likenden izole edilen 3-hidroksifisodik asit bileşeninin antimikrobiyal aktivitesini değerlendirmiştir.

Duman ve arkadaşları (65) *Usnea florida* (L.) F. H. Wigg., *U. barbata*, *U. longissima*, *U. rigida* Lendemmer & Tavares, *U. hirta* (L.) F. H. Wigg. ve *U. subflorida* Stirton liken türlerinin aseton ekstrelerinin *Bacillus subtilis* ve *B. megaterium*'a karşı aktivite gösterdiklerini fakat *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı aktivite göstermediklerini bildirmiştir.

Candan ve arkadaşları (66) *Parmelia sulcata* Taylor likeninin aseton, kloroform, dietil eter, metanol ve petroleum eter ekstraktlarının ve bu likenin salazirik asit bileşeninin antimikrobiyal aktivitesini araştırmıştır.

1.2. Likenlerin Antioksidan Aktiviteleri

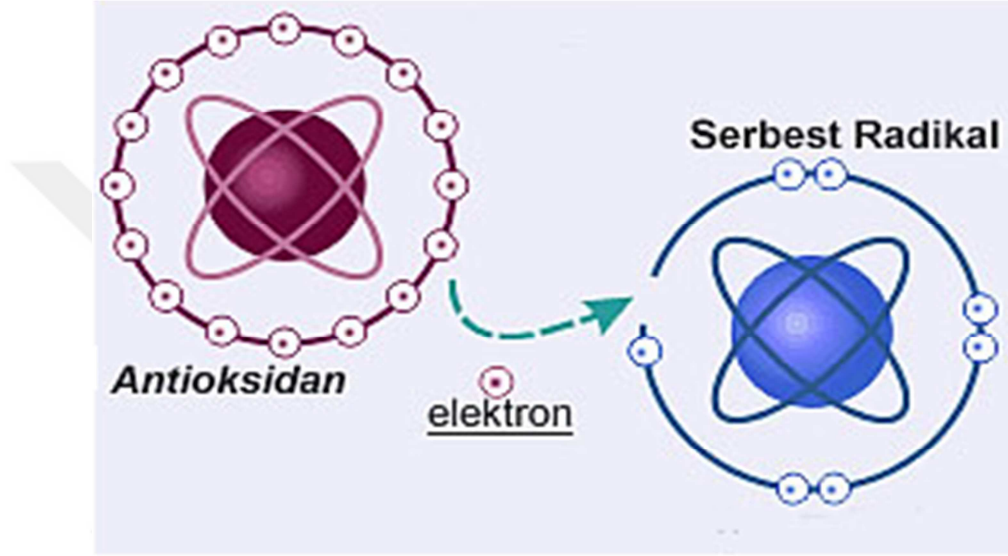
Günümüzde stres, radyasyon gibi çevresel faktörlerden ve organizmanın rutin işlevi sonucu serbest radikaller meydana gelmektedir. Kısa ömürlü, reaktif molekülleri oluşturan serbest radikallerin en mühim olanları süperoksit radikali ($O_2^{\bullet-}$), hidroksil radikali ($\bullet OH$), singlet oksijen (1O_2) ve radikalik olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) ve peroksinitrit ($ONOO^-$) olup “reaktif oksijen tipleri (ROT)” olarak adlandırılırlar. Reaktif oksijen türleri vücudun yaşlanmasına, çeşitli hastalıklara ve günümüzün en büyük sorunu olan kansere sebep olabilmektedir. Serbest radikaller Alzheimer ve aterosklerozis gibi hastalıklara da neden olmaktadır. Serbest radikaller hücrelerdeki lipit, protein, DNA, karbonhidrat gibi hücre içinde önemli yapılara zarar verirler (67).

Serbest radikaller DNA’da mutasyonlara ve protein sentezi inhibisyonuna sebep olmaktadır. Proteinlerin peptid bağlarını parçalayabilirler ve böylelikle hücre zarındaki proteinleri parçalayarak hücrenin ölümüne yol açarlar. Lipitler, serbest radikal saldırılarına en duyarlı moleküllerdir. Hücre zarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerden etkilenerek peroksidasyon ürünleri oluşturur. Lipit peroksidasyonu karbonil ve alken gibi hücreler için toksik pek çok bileşiğin ortaya çıkmasına da neden olmaktadır (67).

Serbest radikallerin neden olduğu oksidasyonlar, bitkilerin yapılarında bulunan antioksidan maddeler sayesinde inaktif hale getirilebilmektedir. ROS hasarlarına karşı insan vücudunda yeterli sistem bulunmaktadır. Bu sistemler hem hücre dışında hem de hücre içinde etkilidir. Serbest radikallerle enzimatik antioksidanlar SOD, CAT ve GPX’tir. Enzimatik olmayan diğer antioksidan bileşikler ise GSH, zarlarına bağlanabilen α - tokoferol ve β -karoten, askorbat ve transferindir (67).

Antioksidan maddeler serbest radikalleri engelleyen ya da onları inaktif hale getirebilen moleküllerdir. Antioksidanlar ve serbest radikaller arasında yaşanan dengesizlik gibi olaylar sonucunda oksidatif stres meydana gelmektedir. (67).

Antioksidanlar yükseltgenme özelliğine sahip olduklarından zincir reaksiyonlarını koparmaları esnasında yükseltgenerek bozunurlar. Bu yüzden de antioksidan özellikli bileşikler yükseltgenen maddeyi sadece kısıtlı bir süre için koruyabilir ve belli bir süreden sonra madde ortamda hiç antioksidan madde yokmuş gibi yükseltgenmeye devam eder (68).



Şekil 1.1. Antioksidanlar ve Serbest Radikaller (69).

Bitki dokularında bulunan doğal antioksidan bileşikler serbest radikal süpürücüsü, singlet ve triplet oksijen kuençeri, peroksit parçalayıcı ve sinerjistler olarak faaliyet gösterirler (70).

Likenlerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili Avrupa'da pek çok çalışma yapılmıştır. Rajan ve arkadaşları (71) *Parmotrema praesorediosum* (Nyl.) Hale, *P. rampoddense* (Nyl.) Hale, *P. tinctorum* ve *P. reticulatum* likenlerinin aseton ve metanol ekstralarının toplam fenolik ve flavonoid içeriklerini ve DPPH radikali süpürme aktivitelerini araştırmıştır.

Caloplaca trachylla (Tuck.) Zahlbr. ve *Xanthoparmelia scabrosa* (Taylor) Hale likenlerinin metanol ekstralarının antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir

çalışmada her iki liken türünün de DPPH radikali süpürme aktivitesi ve superoksit anyon radikali süpürme aktivitesine sahip olduğu bildirilmiştir (72).

Sharma ve Kalikotay'ın (58) yürüttükleri bir çalışmada *Parmotrema reticulatum* ve *Usnea* sp. Likenlerinin etanol ve metanol ekstralarının DPPH radikal süpürme aktiviteleri, toplam antioksidan aktiviteleri, indirgeme gücü, toplam fenolik ve flavonoid içerikleri araştırılmıştır.

Ganesan ve arkadaşları (73) *Ramalina inflata* (Hook. f. & Taylor) Hook. f. & Taylor likeninin petroleum eter, benzen, 2-propanol, etil asetat ve metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini, demir indirgeme gücü aktivitesini, bakır iyonları indirgeme gücü kapasitesini ve toplam antioksidan kapasitesini incelemiştir.

Jya ve arkadaşları (74) Nepal'in yüksek rakımlı bölgelerinden toplanan liken türlerinin çoğunun DPPH radikali süpürme aktivitesine sahip olduğunu rapor etmiştir.

Likenlerin antioksidan aktiviteleri ile ilgili ülkemizde de pek çok çalışma yapılmıştır. Örneğin, *Cladonia rangiformis* Hoffm. likeninin kloroform, su ve metanol ekstraktlarının antioksidan kapasitesi, toplam fenolik içeriği ve indirgeme gücü Yücel ve arkadaşları (75) tarafından çalışılmıştır.

Sökmen ve arkadaşları (76) *Diploschistes scruposus* (Schreber) Norman türünün etanol ekstresinin DPPH radikal süpürme aktivitesi, ABTS radikal süpürme aktivitesi, indirgeme gücü ve toplam fenolik içeriğini araştırmıştır.

Yine Sökmen ve arkadaşları (77) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise *Pseudevernia furfuracea*(L.) Zopf. var. *furfuracea* ve *Evernia prunstri* (L.) Ach. likenlerinin antioksidan aktiviteleri incelenmiştir.

Atalay ve arkadaşları (78) *Lobaria pulmonaria* ve *Usnea longissima* likenlerinin antioksidan aktivitelerini değerlendirmiştir.

Likenlerin yapısında bulunan metabolitlerinin yukarıda belirtilen antibakteriyal ve antioksidan aktivitelerinden başka antifungal, antiherbivor, sitotoksik, anti-tümör ve anti-viral aktivite de gösterdikleri bilinmektedir (37, 79-81).

1.3. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada kayalar üzerinde gelişme gösteren yapraksı formdaki liken türlerinden *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa*'nın etanol ve aseton ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin incelenmesi amaçlanmaktadır.



2. MATERYAL VE METOD

2.1. MATERYAL

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler şunlardır:

Merck; Mhüller Hinton Agar (MHA), Mhüller Hinton Broth (MHB), Folin Ciocalteu reaktifi, Sodyum karbonat, L- Askorbik asit, Sodyum fosfat, Bakır (II) klorid, Sodyum hidroksit, Amonyum molibdat, Sülfürik asit (d=1,840 g/MI, %95-97).

Sigma Aldrich; 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), Kateşin, Gallik asit, Metanol, Potasyum persülfat, Etilen Diamin Tetra Asetik Asit (EDTA), Demir (II) klorür, Alüminyum klorid hidrat, 2,2'Azino-bis (3-etilbenzenotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS), (3-(2-piridil)-5,6-bis (4-fenil-sülfonik asit)-1,2,4-triazin (Ferrozin), Etanol, Dimetil sülfoksit (DMSO), 2,9 dimethyl 1-10 phenantroline (Neokuproin).

Oxoid; Tetrasiklin.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı	Vestel
Etüv	POL-ECO-Aparatura
Distile Su Cihazı	GFL, 2001/4
Otomatik pipetler	Gilson ve Dragon pipetleri
Manyetik Karıştırıcı	Wisd. Laboratory Instruments
Ph Metre	Hanna Instruments, HI 221
Soksalet Cihazı	Velp Scientifica
Steril Kabin	ESCO, Class II, Type A2
Çalkalayıcı Su Banyosu	Julabo SW22
Vorteks	Heidolph
UV-Vıs Spektrofotometre	Shimadzu UV-mini-1240
Otoklav	Zealway GR85DR

2.1.3. Liken Materyalleri

Mevcut çalışmada kullanılan *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* örnekleri Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yer alan aşağıdaki lokalitelerdeki kayalar üzerinden 2016 yılında toplanmıştır (Şekil 2.1, Şekil 2.2.). Toplanan liken

materyalleri oda şartlarında bekletilerek kurutulmaları sağlandıktan sonra Dr. Kadir KINALIOĞLU tarafından Smith ve arkadaşları (82)'nın flora kitabı kullanılarak tayin edilmiştir. Tayini yapılan materyallerin birer örneği Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm'ünde muhafaza edilmiştir.

2.1.4. Örneklerin toplandığı lokaliteler

Dermatocarpon miniatum: Giresun, Giresun Kalesinin doğusu, 110 m, 40°55'13" N, 38°23'25 E", 12.03.2016.

Xanthoparmelia conspersa: Giresun, Keşap, Değirmenağzı köyü, deniz kenarı, 2 m, 40°58'23" N, 38°37'29 E", 19.06.2015.



Şekil 2.1. *Dermatocarpon miniatum*



Şekil 2.2. *Xanthoparmelia conspersa*

2.1.5. Test Bakterileri

Araştırmada 6 gram pozitif, 6 gram negatif olmak üzere 11 bakteri suşu kullanılmıştır. *Salmonella enterica* ve *Staphylococcus aureus* Giresun İl Kontrol Laboratuvarından, *Bacillus cereus* ve *Yersinia pseudotuberculosis* Rize Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalından, *Enterobacter aerogenes*, *Bacillus subtilis* ve *Proteus vulgaris* Fırat Üniversitesi Biyoloji Bölümünden, *Gordonia rubripertincta*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Bacillus megaterium* Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümünden, *Escherichia coli* Giresun Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiştir.

2.2. METOD

2.2.1. Liken Ekstraktlarının Hazırlanışı

Bitkilerde antimikrobiyal etkiye sahip maddeleri elde etmede gerekli olan ilk basamak etken maddenin ekstrakte edilmesidir. Ekstraksiyon, farklı çözücülerden yararlanarak bitki bünyesindeki antimikrobiyal etken maddelerin ayrılması sürecidir. Ekstraksiyon bitkinin ön yıkanması, kurutulması ve homojen örnek elde etmek için ezme gibi basamaklardan oluşmaktadır. Bitki örneklerinden ekstrakt elde edilmesinde aktif etkiye sahip bileşiklerin yok olmasına, bozulmamasına ve tahrip edilmemesine özen gösterilmelidir (83).

Bu amaçla, kurutulmuş liken örnekleri toz haline getirilmiştir. Daha sonra 15'ar gram liken örneği tartılarak 150 mL etanol ve 150 mL aseton çözücülerini ayrı ayrı Sokslet ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Ekstraktlar Whatman No.1 kağıdı ile filtre edilmiştir. Filtratların çözücülerini 40 °C'de etüvde uçurulmuştur. Ekstraktlar antimikrobiyal ve antioksidan bakımdan test edilene dek -80 °C de saklanmıştır (84).

2.2.2. Liken Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.2.2.1. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Dermatocarpon miniatum ve *Xanthoparmelia conspersa* likeninin aseton ve etanol ekstraktları DMSO ile 15 mg/mL konsantrasyonunda hazırlandı. Liken ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi Kirby-Bauer tarafından önerilen disk-difüzyon yöntemine göre yapılmıştır. Kısaca, Mueller-Hinton sıvı besiyerinde McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanan bakteri kültürlerinden steril eküvyonlar ile alınan örnekler Mueller-Hinton katı besiyerine inoküle edildi. Petri kaplarına 5 mm çapındaki steril boş diskler bırakıldı. Disklere sırasıyla 25 µL *D. miniatum* etanol ekstraktı, 25 µL *D. miniatum* aseton ekstraktı, 25 µL *X. conspersa* etanol ekstraktı, 25 µL *X. conspersa* aseton ekstraktı ve 25 µL DMSO ilave edildi. Standart antimikrobiyal madde olarak tetrasiklin diskleri kullanıldı. İnhibisyon zonları cetvelle ölçüldü. Tüm testler iki tekrarlı olarak yürütüldü (85, 86).

2.2.2.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonunun Belirlenmesi (MİK)

Liken ekstraktlarının 30000 µg/mL konsantrasyonları hazırlandı. Steril tüplerin her birine 950 µL MHB konuldu. 30 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanan liken ekstraktlarından ilk tüpe 1000 µL ilave edilerek seri dilüsyonlar hazırlandı. Son olarak tüplere 50 µL mikroorganizma süspansiyonu ilave edildi. Bakteri süspansiyonu içeren tüpler 37 °C'da 24 saat inkübe edilerek MİK değerleri kaydedildi (87).

2.2.3. Liken Ekstraktlarının Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi

2.2.3.1. Toplam Fenolik İçeriği

Liken ekstraktlarındaki toplam fenolik bileşiklerin miktarları, Slinkard ve Singleton tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak Folin-Ciocalteu çözültüsü kullanılarak

saptandı. Tüplere 100 µL liken ekstraktı konularak üzerlerine 4.5 µL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı (1:3 oranında seyreltilmiş) ilave edildi. 3 dk sonra karışıma % 2'lik Na₂CO₃ çözeltisinden 300 µL ilave edildi. Karışımın absorbansı 760 nm'de spektrofotometrede okundu. Çalışmada standart olarak gallik asit kullanıldı. Gallik asit kullanılarak hazırlanan standart grafikten de yararlanılarak sonuçlar, mg gallik asit ekuvalenti (GAE) /g liken şeklinde verildi. Testler üç tekrarlı gerçekleştirildi (88).

2.2.3.2. Toplam Flavanoid İçeriği

Liken ekstraktlarından 250 µL tüplere konularak üzerlerine 1.25 µL distile su ve %5'lik 75 µL NaNO₂ ilave edildi ve karışım 6 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Sonrasında % 10'luk 150 µL AlCl₃.6H₂O ilave edilerek karışım 5 dk daha bekletildi. Karışıma 1M, 50 µL NaOH ve 725 µL eklenerek absorbans 510 nm'de okundu. Çalışmada standart madde olarak kateşin kullanıldı. Toplam flavanoid miktarı kateşinin standart grafik denkleminde µg QE/g liken örneği olarak belirlendi. Testler üç tekrarlı yapıldı (89).

2.2.3.3. Metal Şelatlama Aktivitesi

Liken ekstraktlarından 500 µL alınarak üzerine 1.6 mL distile su ilave edildi. Sonrasında 0.05 mL FeCl₂ ilave edilerek karışım 30 dk bekletildi. Daha sonra 0.1 mL ferrozin ilave edilerek 10 dk daha bekletildi ve absorbans 562 nm'de ölçüldü. Sonuçlar % aktivite olarak aşağıdaki denklemden hesaplandı (90).

$$\% \text{ Aktivite} : [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀=Kontrol absorbans değeri

A₁= Örnek absorbans değeri

2.2.3.4. ABTS Radikali Süpürme Aktivitesi

Liken örneklerinin ABTS radikali süpürme aktiviteleri Arnao ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntemine göre yapıldı. 7.4 mM ABTS ve 2.6 mM potasyum persülfatın su ile çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltiler karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletildi. Sonrasında bu karışıma metanol ilave edildi. Bu çözeltinin absorbansı 734 nm'de okundu ve ABTS+ katyonunun absorbansı 0.700±0.02'dir. Hazırlanan ABTS çözeltisinden 2850 µL alınarak üzerine 150 µL liken ekstraktı ilave edildi ve elde

edilen karışım karanlıkta 2 saat bekletilerek absorbansı 734 nm’de ölçüldü. Çalışmada standart madde olarak rutin ve BHT kullanıldı. Testler üç tekrarlı yapıldı. Sonuçlar % aktivite olarak aşağıdaki denklemden hesaplandı (91).

$$\% \text{ Aktivite: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 =Kontrol absorbans değeri

A_1 = Örnek absorbans değeri

2.2.3.5. Toplam Antioksidan Kapasitesi

0.3 mL liken ekstraktı ile 0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 28 mM amonyum molibdat içeren 3 mL’lik çözelti karıştırıldı. Karışım 95 °C’de 90 dk su banyosunda inkübe edildi ve absorbans 695 nm’de spektrofotometrede ölçüldü. Sonuçlar askorbik asit standart grafik denkleminde μg askorbik asit/g liken örneği olarak hesaplandı. Testler 3 tekrarlı olarak yürütüldü (92).

2.2.3.6. DPPH Radikali Süpürme Aktivitesi

Liken ekstraktlarının standart antioksidan maddelerin DPPH radikal giderme aktivitesi Brand-Williams metoduna göre DPPH radikali kullanılarak tayin edildi (93). 20 mg/L DPPH çözeltisi metanolde çözüldü ve günlük olarak hazırlandı. Bu çözeltiden 1.5 mL alınarak üzerine farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış (250-1000 $\mu\text{g/mL}$) liken ekstraktından 0.75 mL ilave edildi. Absorbans 517 nm’de 30. dakikada köre karşı spektrofotometrede ölçüldü. Standart olarak BHT ve Rutin kullanıldı (93).

DPPH radikali giderme aktivitesi % aktivite değerleri ise aşağıda verilen formül ile hesaplandı.

$$\% \text{ Aktivite: } [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A_0 =Kontrol absorbans değeri

A_1 = Örnek absorbans değeri

2.2.4. İstatistiksel Analiz

Liken ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları üç tekrarlı yapılmış olup istatistiksel analizler SPSS 17.0 (SPSS Inc, Chicago, USA) istatistiksel analiz programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında “Varyans Analizi (ANOVA) ve Duncan Testleri”

kullanılmıştır. Örneklere ait verilerin karşılaştırılması neticesinde elde edilen P değerleri 0.05'ten küçük olduğunda ($P < 0.05$) istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir. Toplam fenolik içeriği, toplam flavanoid içeriği, toplam antioksidan kapasitesi deneylerinde istatistiksel farklılıklar ekstraktlar arasında hesaplanırken; metal şelatlama aktivitesi, DPPH radikali süpürme aktivitesi ve ABTS radikali süpürme aktivitesi deneylerindeki istatistiksel farklılıklar her bir ekstraktın konsantrasyonları kendi arasında olacak şekilde hesaplanmıştır.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Antimikrobiyal Aktivite

Liken ekstraktlarının oluŐturdukları inhibisyon zonları Tablo 3.1.'de verilmektedir. Kullanılan tüm ekstraktlar *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* dışındaki diğer tüm bakterilere değişik oranlarda antimikrobiyal etki gösterdi.

Liken türlerinin aseton ekstraktlarının etanol ekstraktlarına oranla daha yüksek aktivite gösterdiği tespit edildi. En yüksek aktivite *Xanthoparmelia conspersa* likeninin aseton ekstraktında *Bacillus scereus* ve *B. subtilis*'e karşı (18 mm), en düşük aktivite ise *Xanthoparmelia conspersa*'nın aseton ekstraktında *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Klebsiella pneumoniae* üzerinde, *Dermatocarpon miniatum*'un etanol ekstraktında *Enterobacter aerogenes* bakterisine karşı (6 mm) ve *Dermatocarpon miniatum* aseton ekstraktında *Staphylococcus aureus*'a karşı 6 mm olarak belirlendi. Liken ekstraktları *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* suşları üzerinde aktivite göstermemiştir.

Çalışılan liken türlerinin antimikrobiyal etkinlikleri kıyaslanmıŐ ve *Xanthoparmelia conspersa* likeninin *Dermatocarpon miniatum* likenine oranla daha aktif olduğu sonucuna varılmıştır.

Yapılan deneyler sonucunda DMSO ile hazırlanan negatif kontrol disklerinin test bakterileri üzerinde inhibitör etkiye sahip olmadığı görüldü. Pozitif kontrol olarak kullanılan tetrasiklinin liken ekstraktlarından daha yüksek etki gösterdiği belirlendi.

Tablo 3.1. Liken ekstratlarının oluşturduğu inhibisyon zonları (mm)

Bakteri	<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	Tetra	DMSO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	--	--	--	--	18	--
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC 911	--	8	8	6	--	--
<i>Bacillus cereus</i> 702 ROMA	7	16	9	18	18	--
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028	--	--	--	--	17	--
<i>Bacillus subtilis</i> IMG 22	12	11	12	18	12	--
<i>Proteus vulgaris</i> FMC 1	8	12	10	16	10	--
<i>Bacillus megaterium</i> (lab izolatı)	--	7	14	--	20	--
<i>Staphylococcus aureus</i> <i>subsp. aureus</i> ATCC 25923	--	6	9	11	22	--

Tablo 3.1. in devamı

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (lab izolatu)	--	--	8	6	15	--
<i>Gordonia rubripertincta</i> (lab izolatu)	--	--	10	15	17	--
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	6	9	10	15	--	--

--: Aktiviteye rastlanmadı. Gen: Gentamisin (10µg/disk)

Tablo 3.2.'de *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinin MİK değerleri verilmektedir. Bakteriyel üremenin olmadığı en düşük konsantrasyona minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) adı verilmektedir. Özellikle *X. conspersa* etanol ve aseton ekstraktlarının *Bacillus cereus* üzerinde daha düşük konsantrasyonlarda (0.46875-0.05859 mg/mL) etkili oldukları görülmüştür. *X. conspersa* likeni ekstraktları *D. miniatum* likeni ekstraktlarına oranla daha düşük MİK değerlerine sahiptir.

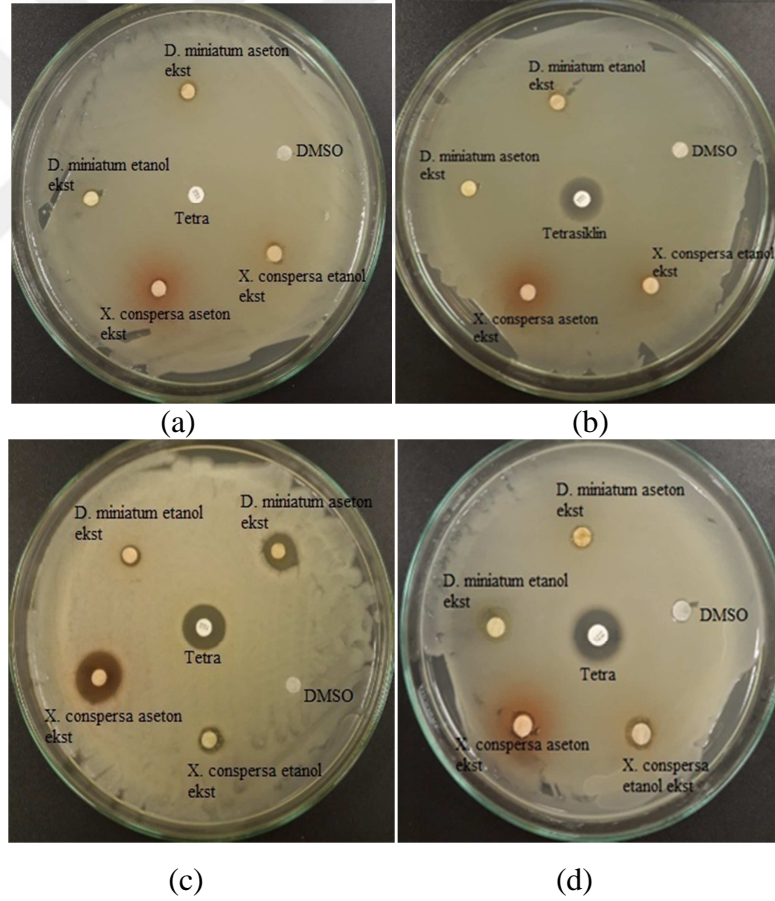
Tablo 3.2. Liken ekstratlarının MİK değerleri (µg/mL)

Bakteri	<i>Dermatocarpon miniatum</i> <i>etanol ekstraktı</i>	<i>Dermatocarpon miniatum</i> <i>aseton ekstraktı</i>	<i>Xanthoparmelia conspersa</i> <i>etanol ekstraktı</i>	<i>Xanthoparmelia conspersa</i> <i>aseton ekstraktı</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	--	--	--	--
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ATCC 911	--	3.75	3.75	3.75
<i>Bacillus cereus</i> 702 ROMA	3.75	0.234375	0.46875	0.05859
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028	--	--	--	--
<i>Bacillus subtilis</i> IMG 22	3.75	0.1171875	0.1171875	0.05859
<i>Proteus vulgaris</i> FMC 1	3.75	0.1171875	0.05859	0.02929
<i>Bacillus megaterium</i> (lab izolatı)	--	1.875	0.46875	--
<i>Enterobacter aerogenes</i> CCM 2531	3.75	0.1171875	0.234375	0.1171875

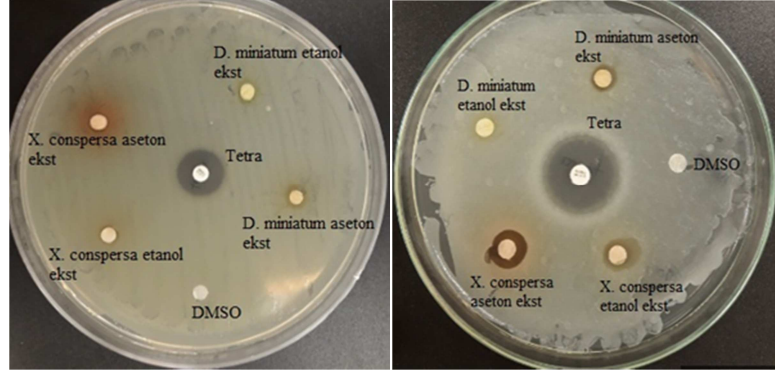
Tablo 3.2.'nin devamı

<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 25923	--	3.75	0.46875	0.1171875
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (lab izolatu)	--	3.75	3.75	1.875
<i>Gordonia rubripertincta</i> (lab izolatu)	--	--	0.46875	0.234375

--: Aktiviteye rastlanmadı. Gen: Gentamisin (10 µg/disk)

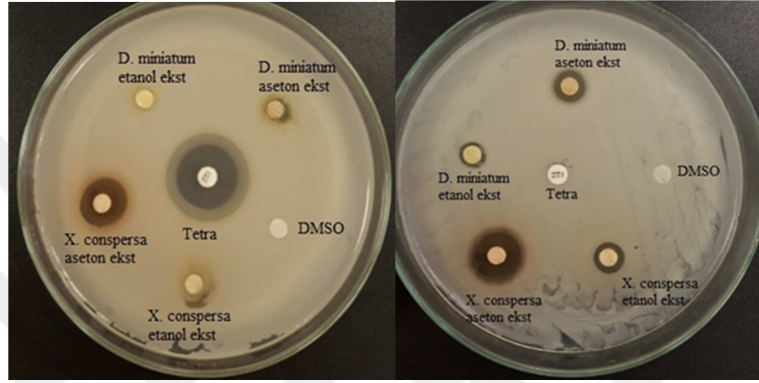


Şekil 3.1. Liken ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* (a), *Bacillus cereus* (b), *Yersinia pseudotuberculosis* (c), *Escherichia coli* (d), suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri



(e)

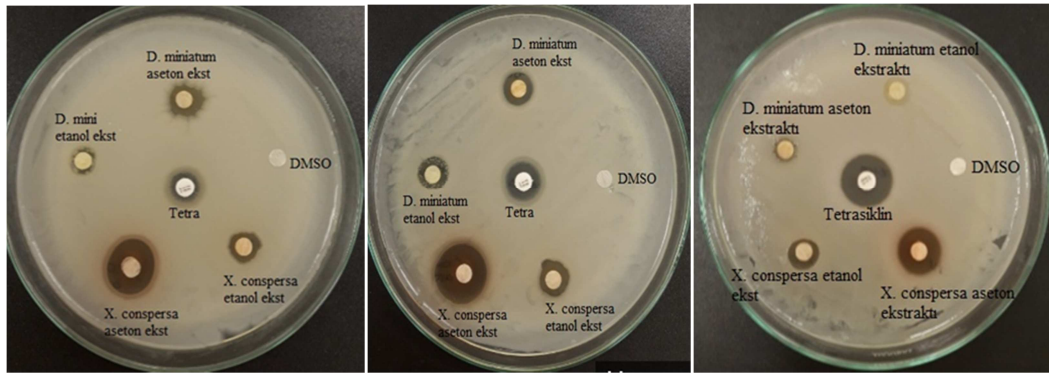
(f)



(g)

(h)

Şekil 3.2. Liken ekstraktlarının *Klebsiella pneumoniae* (e), *Staphylococcus aureus* (f), *Enterobacter aerogene* (g), *Bacillus megaterium* (h), suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri



(i)

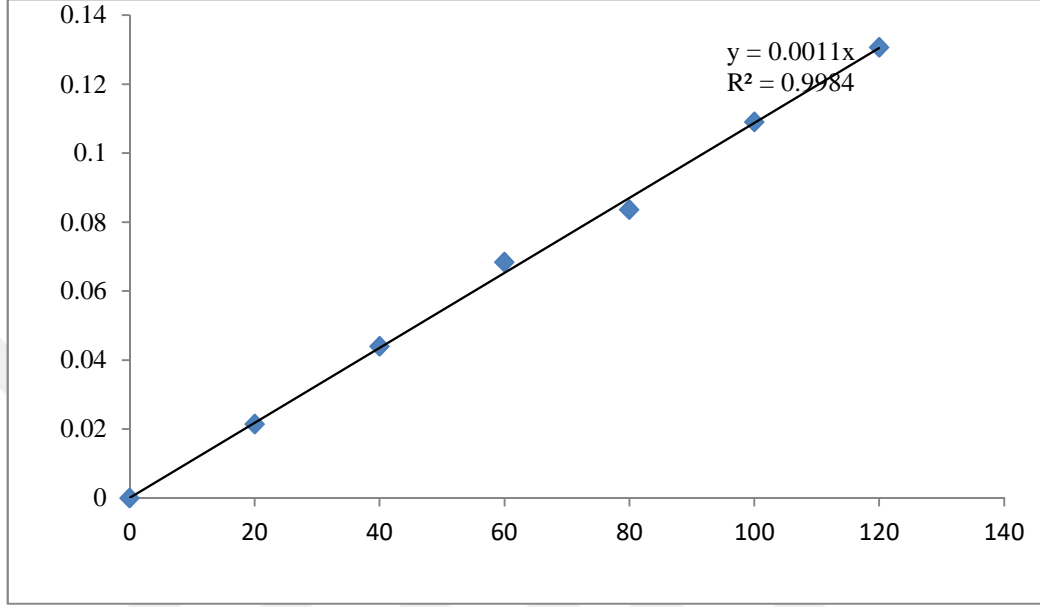
(i)

(j)

Şekil 3.3. Liken ekstraktlarının *Proteus vulgaris* (i), *Bacillus subtilis* (i) ve *Gordonia rubripertincta* (j) suşları üzerine antimikrobiyal aktiviteleri

3.2. Antioksidan Aktivite

Liken ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri tablo 3.3.'de, gallik asit standart grafiği ise şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Gallik asit standart eğrisi

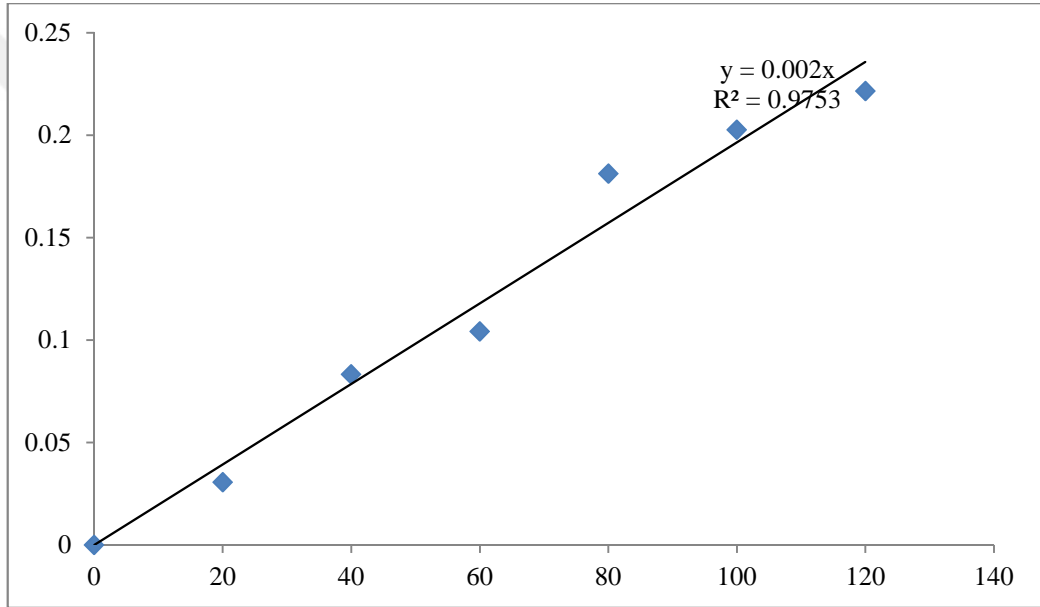
Tablo 3.3. Liken ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri (µg GAE/g liken)

Ekstrakt	Toplam Fenolik İçeriği (µg GAE/g liken)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	86.27±0.007 ^c
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	25.08±0.002 ^a
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	67.72±0.01 ^b
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	209.92±0.01 ^d

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır ± standart sapma

Örneklerin toplam fenolik madde miktarı 25.08 ± 0.002 - 209.92 ± 0.01 μg GAEg liken aralığında bulunmuştur. En yüksek fenolik madde içeriği *Xanthoparmelia conspersa* aseton ekstraktında, en düşük fenolik madde içeriği ise *Dermatocarpon miniatum* aseton ekstraktında belirlenmiştir. Liken ekstraktlarının toplam fenolik içerikleri istatistiksel açıdan incelendiğinde, ekstraktlar arasında önemli farklılıklar görülmektedir ($p < 0.05$).

Liken ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri tablo 3.4.'de, kateşin eşdeğer grafiği ise şekil 3.5.'te verilmiştir.



Şekil 3.5. Kateşin standart eğrisi

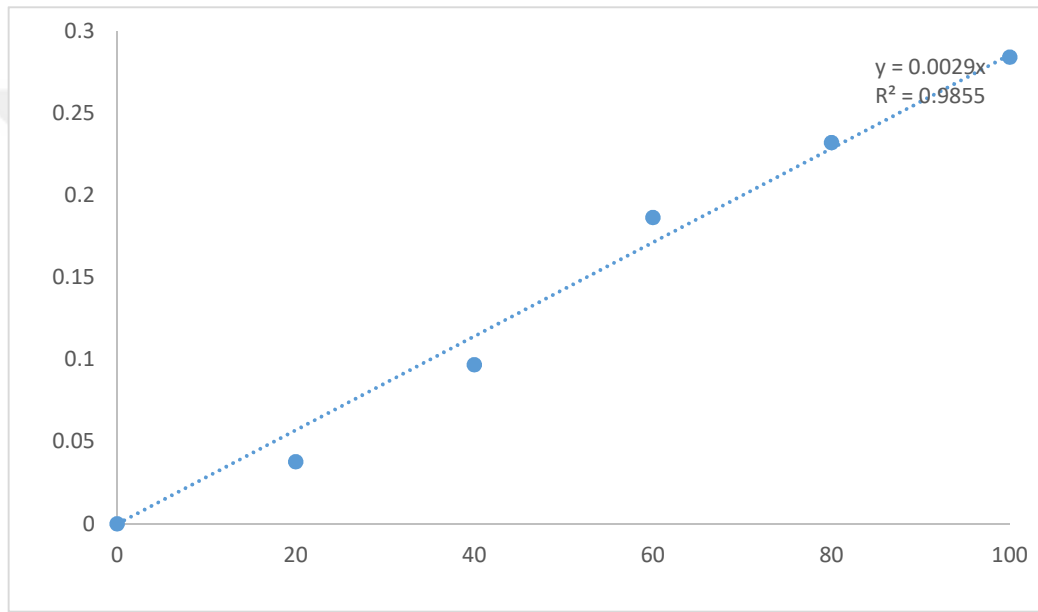
Tablo 3.4. Liken ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri (μg KE/g liken)

Ekstrakt	Toplam Flavonoid İçeriği (μg KE/g liken)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	44.79 ± 0.006^a
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	52.20 ± 0.01^b
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	68.68 ± 0.03^c
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	83.60 ± 0.02^d

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır \pm standart sapma

Toplam flavonoid madde içeriği ise 44.79 ± 0.006 - 83.60 ± 0.002 $\mu\text{g KE/g}$ liken aralığında bulunmuştur. *Xanthoparmelia conspersa* likeni ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri *Dermatocarpon miniatum* likeni ekstraktlarından daha yüksek bulunmuştur. Liken ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri istatistiksel açıdan incelendiğinde, ekstraktlar arasında önemli farklılıklar görülmektedir ($p < 0.05$).

Liken ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri tablo 3.5.'de, askorbik asit eşdeğer grafiği şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3.6. Askorbik asit standart grafiği

Tablo 3.5. Liken ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri ($\mu\text{g AA/g}$ liken)

Ekstrakt	Toplam Antioksidan Kapasitesi ($\mu\text{g AA/g}$ liken)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	92.59 ± 0.02^d
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	48.43 ± 0.07^a
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	52.58 ± 0.05^b
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	63.54 ± 0.006^c

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır \pm standart sapma

En yüksek toplam antioksidan kapasitesi *Dermatocarpon miniatum* etanol ekstraktında belirlenirken, en düşük toplam antioksidan kapasitesi *D. miniatum* aseton ekstraktında saptanmıştır. Liken ekstraktlarının toplam antioksidan kapasiteleri istatistiksel açıdan incelendiğinde, ekstraktlar arasında önemli farklılıklar görülmektedir ($p<0.05$).

Liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi Tablo 3.6.'da verilmektedir. Çalışılan liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi arasında *Xanthoparmelia conspersa* etanol ekstraktı>*Dermatocarpon miniatum* aseton ekstraktı>*Dermatocarpon miniatum* etanol ekstraktı>*Xanthoparmelia conspersa* aseton şeklinde bir sıralama bulunmaktadır.

Standart madde olarak kullanılan BHT ve Rutin, ekstraktlardan daha yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca ekstraktların DPPH radikali süpürme aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak artmaktadır.

Liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktiviteleri istatistiksel açıdan incelendiğinde, her bir ekstraktın kendi konsantrasyonları (250-1000 $\mu\text{g/ml}$) arasında önemli farklılıklar görülmektedir ($p<0.05$).

Tablo 3.6. Liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi

Ekstrakt	Konsantrasyon (µg/ml)	DPPH Radikali süpürme aktivitesi (% aktivite)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	250	6.87±0.01 ^a
	500	22.72±0.03 ^b
	750	34.17±0.04 ^c
	1000	41.63±0.03 ^d
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	250	10.43±0.02 ^a
	500	16.49±0.02 ^b
	750	35.20±0.02 ^c
	1000	49.03±0.01 ^d
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	250	44.34±0.01 ^a
	500	50.22±0.06 ^b
	750	57.92±0.02 ^c
	1000	64.92±0.005 ^d
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	250	18.84±0.01 ^a
	500	24.61±0.03 ^b
	750	29.20±0.03 ^c
	1000	32.25±0.01 ^d
BHT	250	88.85±0.01 ^a
	500	89.55±0.005 ^b
	750	90.27±0.01 ^c
	1000	91.55±0.008 ^d
Rutin	250	86.80±0.008 ^a
	500	87.91±0.003 ^b
	750	90.60±0.004 ^c
	1000	91.89±0.01 ^d

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır ± standart sapma

Liken ekstraktlarının ABTS radikali süpürme aktiviteleri Tablo 3.7.'de verilmektedir. En yüksek ABTS⁺ radikali yok etme kapasitesi *Xanthoparmelia conspersa* etanol ekstraktında saptanmıştır. Ayrıca ekstraktların ABTS radikali süpürme aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak artmaktadır.

Tablo 3.7. Liken ekstraktlarının ABTS radikali süpürme aktivitesi

Ekstrakt	Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	ABTS radikali süpürme aktivitesi (% inhibisyon)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	250	21.14 \pm 0.05
	500	59.21 \pm 0.008
	750	77.20 \pm 0.010
	1000	83.87 \pm 0.02
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	250	8.73 \pm 0.03
	500	38.36 \pm 0.04
	750	63.41 \pm 0.02
	1000	81.12 \pm 0.02
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	250	85.48 \pm 0.03
	500	93.39 \pm 0.002
	750	94.07 \pm 0.006
	1000	96.84 \pm 0.007
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	250	--
	500	--
	750	--
	1000	24.36 \pm 0.007
BHT	250	93.48 \pm 0.01
	500	93.92 \pm 0.006
	750	94.43 \pm 0.004
	1000	96.65 \pm 0.008
Rutin	250	78.54 \pm 0.04
	500	81.94 \pm 0.01
	750	85.26 \pm 0.01
	1000	87.63 \pm 0.006

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır \pm standart sapma

Liken ekstraktlarının metal şelatlama aktiviteleri Tablo 3.8.'de görülmektedir. Çalışılan liken ekstraktları oldukça zayıf metal şelatlama aktivitesi göstermiştir. *Dermatocarpon miniatum* likeninin etanol ekstraktı, *D. miniatum* likeninin aseton ekstraktı ve *Xanthoparmelia conspersa* likeninin aseton ekstraktı (1000 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hariç) metal şelatlama aktivitesi göstermemiştir.

Tablo 3.8. Liken ekstraktlarının metal şelatlama aktivitesi

Ekstrakt	Konsantrasyon (µg/ml-)	Metal şelatlama aktivitesi (%inhibisyon)
<i>Dermatocarpon miniatum</i> etanol ekstraktı	250	--
	500	--
	750	--
	1000	--
<i>Dermatocarpon miniatum</i> aseton ekstraktı	250	--
	500	--
	750	--
	1000	--
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> aseton ekstraktı	250	--
	500	--
	750	--
	1000	5.71±0.02
<i>Xanthoparmelia conspersa</i> etanol ekstraktı	250	0.345±0.005 ^a
	500	0.522±0.02 ^b
	750	1.27±0.01 ^c
	1000	4.11±0.02 ^d
EDTA	250	94.27±0.03 ^a
	500	97.53±0.01 ^b
	750	99.89±0.0004 ^c
	1000	99.91±0.0004 ^c

*Değerler üç deneyin ortalamasıdır ± standart sapma

Liken ekstraktlarının metal şelatlama aktiviteleri istatistiksel açıdan incelendiklerinde *Xanthoparmelia conspersa* likeninin etanol ekstraktının tüm 250, 500, 750 ve 1000 µg/ml konsantrasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05). EDTA'nın ise 250, 500 ve 750 µg/ml konsantrasyonları arasındaki farklar önemliyken (P<0.05), 750 ve 1000 µg/ml konsantrasyonları arasındaki farklılıklar önemsizdir (p>0.05)

3.TARTIŞMA VE SONUÇ

Verrucariaceae familyasına ait *Dermatocarpon miniatum* ve Parmeliaceae familyasına ait *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinden hazırlanan etanollü ve asetonlu ekstraktların 11 bakteri suşu üzerine antimikrobiyal aktiviteleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçta *X. conspersa* likeni ekstraktlarının bakteriler üzerinde *D. miniatum* likeninden daha yüksek inhibitör etki gösterdiği görüldü.

Antibiyotiklerin kullanımını sınırlayan durumlar antimikrobiyal özelliklere sahip bitkilere olan ilgiyi artırmıştır. Bilim insanları, özellikle son yıllarda bitkilerden izole edilen ve patojenik mikroorganizmaları inhibe edebilen aktif bileşiklerle ilgilenmektedirler (95).

Mevcut literatürlere göre, araştırmamızda kullandığımız *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinin antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur.

Aslan ve arkadaşları (96) bu türlerden *Dermatocarpon miniatum*'un metanol ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini incelemiş ve bu çalışma sonucunda *D. miniatum* likeninin metanol ekstraktının kullanılan test bakteri ve mantarlarına karşı aktivite gösterdiği, mayalara karşı ise aktivite göstermediği sonucuna ulaşmıştır. Bizim çalışmamız neticesinde de *D. miniatum* likeninin aseton ve etanol ekstraktının test bakterileri üzerinde değişik oranlarda etki gösterdiğini tespit edilmiştir.

Dermatocarpon miniatum likeni kullanılarak gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, bu türünün *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (97). Bizim çalışmamız neticesinde ise, *D. miniatum* likeninin aseton ve etanol ekstraktlarının *Bacillus subtilis*'e karşı aktivite göstermediği gözlenmiştir. Diğer taraftan *D. miniatum* likeninin aseton ekstraktının *S. aureus*'a karşı çok düşük bir aktivite gösterirken, etanol ekstraktının ise herhangi bir aktivite göstermediği görülmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız bir diğer liken türü olan *Xanthoparmelia conspersa* ile ilgili yapılan bir çalışmada Duman (98) bu liken türünün aseton ekstresinin *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerine olan etkilerini araştırmıştır. Araştırmacı bu çalışma neticesinde *X. conspersa* likeninin *S. aureus* ve *P. aeruginosa* dışındaki bakterilere karşı etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bizim çalışmamız sonucunda *X. conspersa* likeninin aseton ekstraktının *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde aktivite gösterdiği fakat *Escherichia coli* ve *Bacillus megaterium* bakterileri üzerinde ise aktivite göstermediği tespit edilmiştir.

Bir bitkinin antimikrobiyal etkinliği kullanılan besiyeri türü, bitkinin toplanma zamanı, coğrafik bölge, iklim, mikroorganizma türü gibi değişik faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (99).

Duman (98) ile bizim çalışmamız arasındaki farklılığın nedeninin yukarıdaki faktörlerden kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Kullandığımız *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde toplam fenolik içeriğinin belirlenmesi, toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi, toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi, DPPH radikali süpürme aktivitesinin belirlenmesi, ABTS radikali süpürme aktivitesinin belirlenmesi, metal şelatlama aktivitesinin belirlenmesi parametrelerinden faydalanılmıştır.

En yüksek fenolik içeriğine *X. conspersa* likeninin aseton ekstraktında rastlanılırken; en düşük fenolik içeriğine ise *D. miniatum* likeninin aseton ekstraktında rastlanılmıştır. En yüksek ve en düşük flavonoid içerikleri ise sırasıyla *X. conspersa* aseton ekstraktında ve *D. miniatum* aseton ekstraktında bulunmuştur. Liken ekstraktlarının DPPH radikali süpürme aktivitesi ve metal şelatlama aktiviteleri kullanılan sentetik antioksidanlardan daha düşük bulunmuştur.

Antioksidan özelliğe sahip olan maddelerin en önemlilerinden birinin fenolik maddeler olduğu bilinmektedir. Fenolik maddeler bitkinin gelişimi sırasında sentezlenen ikincil metabolitlerdir. Bu maddeler çoğunlukla bir veya daha fazla hidroksil grup ihtiva eden bir aromatik halkaya sahiptir (100).

Toplam fenolik içeriğinin belirlenmesi metodunun esasını, fenolik bileşikler ve diğer indirgeyici bileşiklerden molibdenyum'a elektron transfer edilmesi oluşturmaktadır. Mavi renkli kompleks oluşumu 765 nm'de spektrofotometrede ölçülmektedir (101).

Çalışmamızda kullandığımız *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* likenleri ile ilgili yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları gibi antioksidan aktivite çalışmaları da sınırlıdır.

Aslan ve arkadaşları (96), *D. miniatum* likeninin metanol ekstraktının DPPH radikali süpürme aktivitesinin IC₅₀ değerini 396.1 µg/mL olarak, toplam fenolik içeriğini ise 2.9 gallik asit eşdeğeri olarak bulmuştur. Bizim çalışmamızda ise *D. miniatum* likeninin etanol ekstraktının DPPH radikali süpürme aktivitesi % 41.63 olarak bulunurken, aseton ekstraktının DPPH radikali süpürme aktivitesi %49.03 olarak saptanmıştır. Araştırmamız sonucunda ayrıca *D. miniatum* likeninin etanol ekstraktının toplam fenolik içeriği 86.27 mg gallik asit eşdeğeri/g liken olarak hesaplanırken; aseton ekstraktının toplam fenolik içeriği 25.08 mg gallik asit eşdeğeri/g liken olarak hesaplanmıştır.

De Paz ve arkadaşları (102) *Xanthoparmelia conspersa* likeninden izole edilen stiktik asitin antioksidan özelliğe sahip olduğunu saptamıştır. Benzer şekilde bizim çalışmamız sonucunda da, *X. conspersa* likeninden elde edilen etanol ve aseton ekstraktlarının her ikisinin de değişik oranlarda antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Çağımızda insanların sürekli olarak toksik aktivite özelliği olan maddelere maruz kalması, beslenmeden kaynaklanan kalp ve damar hastalıkları ve kanser gibi hastalıkların artışı nitelikli beslenmenin önemini daha da arttırmaktadır. Besin değeri yüksek ve raf ömrü uzun gıdalar üretme gayesi üretilen gıdalar üzerindeki önemi daha da arttırmıştır. Yapay antioksidan ve antimikrobiyallerin vücutta meydana

getirdikleri hasarlardan dolayı yapay maddelerin yerini alabilecek doğal koruyucu arayışları hızla devam etmektedir. Bunun gibi çalışmalar ışığında yüksek antioksidan ve antimikrobiyal etkinlik gösteren bitki ekstraktları saptanarak, bu ekstraktların gıda sistemlerindeki koruyucu etkilerinin incelenmesi ile çalışmaların endüstriyel uygulamaya yönelik devamlılığının sağlanması gerekmektedir.

Araştırmalarımız, *Dermatocarpon miniatum* ve *Xanthoparmelia conspersa* likenlerinin aseton ve etanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliğe sahip oldukları ve sentetik antioksidan ve antibiyotik maddelere alternatif doğal antioksidan ve antimikrobiyal madde olarak kullanılabilceğini göstermiştir.



KAYNAKLAR

1. Motaleb, A.M. 2011. *Selected Medicinal Plants of Chittagon Hill Tracts*. IUCN (International Union For Conservation of Nature). Progressive printers Pvt. Ltd., Dhaka.
2. Principe P. 1991. *Monetising the pharmacological benefits of plants*. US Environmental protection Agency, Washington.
3. Şen C. 2011. *Hibiscus sabdariffa* L. bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması. Trakya Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Fen bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 57, Edirne.
4. Dağcı E.K., Dığrak, M. 2005. Bazı Meyve Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktiviteleri.” KSU, *Journal of Science and Engineering* 8(2).
5. Ünal, L., 2006. Türkiye florasında doğal olarak yetişen bazı bitki türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi” Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans, Tezi, Erzurum
6. Yıldız, B., Aktoklu, E. 2010. *Bitki Sistematiği*. Palme yayıncılık, Ankara.
7. Sürücüoğlu, M.S., Faydaoğlu, E. 2011. Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. Kastamonu Üni. *Orman Fakültesi Dergisi* 11 (1): 52 - 67
8. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/09e9d4bcc8157c0_ek.pdf Web adresinden 15.06 tarihinde edinilmiştir.
9. Baytop, T. 199. *Bitkiler İle Tedavi*. Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
10. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/09e9d4bcc8157c0_ek.pdf.Web adresinden 16.06 tarihinde edinilmiştir.

11. Işık, S. 2010. Biyolojik Yönden Önemli Tıbbi Bitkiler ve Bitkisel Ürünlerde Kalitenin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, pp. 108, Ankara.
12. Kartal, M. 2004. Avrupa Birliği Ülkelerinde Tıbbi Bitkisel Ürünlerin Ruhsatlandırılması. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, No: 81: 109-124.
13. Kırbağ, S., Zengin, F. 2006. Elazığ Yöresindeki Bazı Tıbbi Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi* 16(2): 77-80.
14. Özbek, H., 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi* 12 (2):170-174.
15. Özhatay, N., Koyuncu, M., Atay, S., Byfield, A. 1997. *Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma*. İstanbul.
16. Aydın, S. 2004. Anadolu Diyagonali. Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel bir Farklılığa İşaret edebilir mi?, *Kebikeç İnsan Bilimleri için Kaynak Araştırmaları Dergisi* 17: 117-137.
17. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N. 2000. *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler), Red Data Book Of Turkish Plants (Pteridophyta And Spermatophyta)*, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ankara.
18. Altun D. 2007. *Usnea longissima* Ach. Likeninin *Drosophila melanogaster'* in Çeşitli Gelişim Parametrelerine Ömür Uzunluğu Üzerindeki Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 72 , Erzurum.
19. Dilsizoğlu A., Kavuncuoğlu Z., Oba D. 2004. Eski ve Yeni Kullanım Alanları, Bilinmeyen Yönleriyle Likenler. *Bilim Ve Teknik*.86-89.

20. <http://www.britishlichens.co.uk/whatarelichens.html> Web adresinden 16.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
21. Purvis, W. 2000. *Lichens*. The Natural History Museum, London.
22. <http://www.lichens.lastdragon.org/faq/licenthallustypes.html> Web adresinden 20.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
23. Çobanoğlu, G. 2005. Likenlerin Potansiyel Kullanımlarına Tarihsel Bakış ve Türk Tıp Tarihinde Likenler. *Türk Liken Topluluğu (TLT) Bülteni* 1: 14-16.
24. <https://www.anbg.gov.au/lichen/ecology-habitats.html> Web adresinden 16. 06. 20017 tarihinde edinilmiştir.
25. Brodo, I.M., Sharnoff, S.D., Sharnoff, S. 2001. *Lichens of North America*. Yale University Press, London.
26. <https://socratic.org/questions/how-do-lichens-contribute-to-primary-succession-1> Web adresinden 17.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
27. Smith, D.C. 1961. The physiology of *Peltigera polydactyla* (Neck.) Hofim. *Lichenologist* 1: 209.
28. Hale, ME. 1974. *The Biology of Lichens*. Arnold, London.
29. <http://avalon.unomaha.edu/lichens> Web adresinden 15.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
30. https://www.researchgate.net/publication/221924769_Photosynthesis_in_Lichen_Light_Reactions_and_Protective_Mechanisms Web adresinden 15.06.2017 tarihinde edinilmiştir.

31. <http://www.lichens.ie/biology-of-lichens/physiology/> Web adresinden 15.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
32. Graham, L.,Graham, J., Wilcox, L. 2004. *Bitki Biyolojisi*. Çeviri Editörü Işık, K., Palme. Yay., Ankara.
33. Seneviratne, G. and Indrasena, I.K. 2006. Nitrogen fixation in lichens is important for improved rock weathering *J. Biosci.* 31: 639–643.
34. Aydın, S., Bilgiç, S., Durak, P. 2007. Likenlerin Kullanım Alanları. Giresun Üniv. Fen Edebiyat Fak., Biyoloji Böl., Bitirme Tezi, pp. 24, Giresun.
35. <http://www.cpbr.gov.au/lichen/chemistry-1.html>. Web adresinden 15.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
36. Yavuz, M. 2004. Pamukkale Yöresi Likenleri Üzerine Taksonomik ve Ekolojik Bir Çalışma. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisan Tezi, pp. 128, İstanbul.
37. Molnara, K. and Farkasb, E. 2010. *Z. Naturforsch.* 65 c: 157 – 173.
38. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22285236>. Web adresinden 20.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
39. Stocker-Worgotter, E. 2008. Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. *Natural Product Reports* 25: 188–200.
40. Romagni, J.G. and Dayan, F.E. 2002. *Structural diversity of lichen metabolites and their potential use*. In: *Advances in Microbial Toxin Research and its Biotechnological Exploitation* (Upadhyay R. K., ed.). Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York., PP. 151-169.

41. Hyvarinen, M., Koopmann, R., Hormi, O., and Tuomi, J. 2000. Phenols in reproductive and somatic structures of lichens: a case of optimal defence? *Oikos* 91: 371 – 37.
42. Culberson, C.F. and Elix, J.A. 1989. Lichen substances. In: Dey P.M., Harborne J. B. (eds.): *Methods in plant biochemistry*, Academic Press, London, pp. 509–535.
43. Elix, J.A. 1996. *Biochemistry and secondary metabolites*. In: Lichen Biology, 1st ed. (Nash T. H. III, ed.). Cambridge University Press, Cambridge, pp. 155 – 180.
44. Asahina, Y. and Shibata, S. 1954. *Chemistry of Lichen Substances*. Japan Society for the Promotion of Science, Tokyo.
45. Hawksworth, D. L. 1976. Lichen chemotaxonomy. In: *Lichenology: Progress and Problems. The Systematics Association, Special* (Brown D. H., Hawksworth D. L., and Bailey R. H., eds.). Academic Press, London and New York, pp. 139 – 184.
46. Nylander, W. 1866. Circa novum in studio Lichenum critericum chemicum. *Flora* 49: 198 – 201
47. http://lichens.science.oregonstate.edu/antibiotics/lichen_antibiotics.htm Web adresinden 20. 06. 2017 tarihinde edinilmiştir.
48. Crawford, S.D. 2015. Lichens used in traditional medicine In: *Lichen Secondary Metabolites* (ed. Rankovic B.), Springer International Publishing, Switzerland.
49. Aydın, S. 2012. Giresun İlinden Toplanan *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale (Parmeliaceae) and *Rocella phycopsis* Ach. (Roccellaceae) Likenlerinin Antimikrobial Ve Antoksidan Özelliklerinin Araştırılması. Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, pp. 65, Giresun.

50. Ahmadjian, V. and Hale, M.E. 1973. *The Lichens*. Academic Press, New York.
51. Oran, S. 2007. *Türk Liken Topluluğu*, 2007 4: 15-18.
52. Hale, M. E. 1983. *The Biology of Lichens*. London: Edward Arnold
53. http://www.ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2009-04/html/2009-16-4-183-189.htm Web adresinden 15.05.2017 tarihinde edinilmiştir.
54. Çopuroğlu, Ö. 2013. Niğde Yöresindeki Bazı Endemik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 67, Niğde.
55. Aslan, T. 2014 *Usnea longissima* Ach. Liken Türünün Metanol Ekstresinin invitro Sıçan Midesinde Mide Asit Sekresyonu Üzerine Etkisi. Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp, 75, Erzurum.
56. Prashith, K.T.R, Mesta, A.R., Vinayaka, K.S., Darshini, S.M. and Akarsh, S. 2016. Antimicrobial Activity of *Usnea ghattensis* G. Awasthi and *Usnea undulata* Stirt. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 8(12): 83-88.
57. Devi, G.K., Ananthramanan, P., Kathiresan, K. ve Balasubramanian, T. 2011. Antimicrobial Activities of the Lichen *Roccella belangeriana* (Awasthi) from Mangroves of Gulf of Mannar. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences* 40(3): 449-453.
58. Bisht, S., Sharma, S., Kumar, V., Kumar, M., Bisht, S.S. and Nautiyal, B.P. 2014. Assessment of Antimicrobial Efficacy of Secondary Metabolites of Lichen Species from Uttarakhand Temperate Himalayas, India. *Journal of Natural Products* 7: 168-176.

59. Hemgameh, P. and Rajkumar, G.H. 2017. Assessment of Bactericidal Activity of Some Lichen Extracts by Disc Diffusion Assay. *International Journal of Drug Development and Research* 9: 9-19.
60. Dharmadhikari, M., Jite, P.K. and Chettiar, S. 2010. Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen and Its Isolated Mycobiont. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences* 54-58.
61. Abuiraq, L., Wedyan, M. and El-Oqlah, A. 2015. Efficacy of Extracts of Some Lichens for Potential Antibacterial Activity. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 6(1): 318-331.
62. Sesal, C., Çobanoğlu, G., Karaltı, İ. and Açıkgöz, A. 2016. In vitro Antimicrobial Potentials of Four *Ramalina* Lichen Species from Turkey. *Current Research In Environmental&Applied Mycology* 6(3): 202-209.
63. Albayrak, S., Halıcı, M.G. ve Koyun, S. 2016. Likenized Askomiset *Tornabea scutellifera*'nın Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin Araştırılması. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 32(2): 1-10.
64. Yılmaz, M., Tay, T., Kıvanç, M., Türk H. ve Türk A.Ö. 2014. The Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Hypogymnia tubulosa* and Its 3-Hydroxyphysodic Acid Constituent. *Zeitschrift für Naturforschung* 60(1-2): 35-38.
65. Duman, D.C., Kahya, D., Yurdakulol, E. ve Atakol, O. 2006. Identification and Quantitation of Usnic Acid from the Lichen *Usnea* Species of Anatolia and Antimicrobial Activity. *Zeitschrift für Naturforschung* 61c: 773-776.
66. Candan, M., Yılmaz, M., Tay, T., Erdem, M. and Türk, A.Ö. 2007. Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Parmelia sulcata* and Its Salazinic Acid Constituent. *Zeitschrift für Naturforschung* 62c: 619-621.

67. İşbilir, S.S. 2008. Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, pp.117, Edirne.
68. Yavaşer, R. 2011. Doğal ve Sentetik Antioksidan Bileşiklerin Antioksidan Kapasitelerinin Karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 104, Aydın.
69. <http://yumurtaliekmek.com/antioksidan-nedir/> Web adresinden 15.09.2016 tarihinde edinilmiştir.
70. Arıduru, R. ve Arabacı, G. 2013. Ciğertaze Otu (*Salvia officinalis*) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 17(2):241-246.
71. Rajan, V.P., Gunasekaran, S., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Samsudin, M.W. and Din, L.B. 2016. Biological Activities of Four *Parmotrema* Species of Malaysian Origin and Their Chemical Constituents. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 6(8): 36-43.
72. Ismail, M., Ali, S., Abbas, H.F., Mahboob, T., Ahmet, K. and Choudhary, M.I. 2014. Antioxidant Potential of Various Fractions of Lichen Species of Gilgit-Baltistan, District Hunza-Nagar. *International Journal of Biosciences* 5(9): 346-353.
73. Ganesan, A., Puruthothaman, D.K., Muralitharan, U. and Subbaiyan, R. 2016. Metabolite Profiling and in vitro Assessment of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Lichen *Ramalina inflata*. *International Research Journal of Pharmacy* 7(12): 132-138.
74. <http://bmccomplementalternmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12906-017-1797-x> Web adresinden 20.06.2017 tarihinde edinilmiştir.

75. Yücel, O. Odabaşoğlu, F., Güllüce, M., Çalık, Z.Z., Çakır, A., Aslan, A., Yazıcı, K. and Halıcı, M. 2007. Antioxidant and Antimicrobial Properties of A Lichen Species *Cladonia rangiformis* Growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 4(2): 101-103.
76. Sökmen, B., Aydın, S. and Kınalıoğlu, K. 2012. Antioxidant and Antibacterial Properties of A Lichen Species *Diploschistes scruposus* (Schreb.) Norman. *IUFS Journal of Botany* 71(1): 43-51.
77. Sökmen, B.B., Kınalıoğlu, K. and Aydın, S. 2012. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf var. *furfuracea* and *Evernia prunastri* Lichens Collected from Black Sea Region. *Gazi University Journal of Science* 25(3): 557-565.
78. Atalay, F., Halıcı, M.B., Mavi, A., Çakır, A., Odabaşoğlu, F., Kazaz, C. and Aslan, A. 2011. Antioxidant Phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. Lichen Species. *Turkish Journal of Chemistry* 35: 647-661.
79. Nimis P. L. and Skert N. 2006. Lichen chemistry and selective grazing by the coleopteran *Lasioderma serricorne*. *Environ. Exp. Bot.* 55: 175–182.
80. Poykko H., Hyvarinen M., and Bac`kor M. 2005. Removal of lichen secondary metabolites affects food choice and survival of lichenivorous moth larvae. *Ecology* 86: 2623 – 2632.
81. Mayer M., O'Neill M.A., Murry K.E., Santos-Magalhaes N.S., Carneiro-Leao A. M.A., Thompson A.M., and Appleyard V.C. L. 2005. Usnic acid: a non-genotoxic compound with anti-cancer properties. *Anti- Cancer Drugs* 16: 805–809.

82. Smith, C.W., Aptroot, A., Coppins, B.J., Fletcher, A., Gilbert, O.L., James, P.W. and Wolseley, P.A., 2009. *The Lichens of Great Britain and Ireland*. British Lichen Society, London.
83. Çopuroğlu, Ö. 2013. Niğde Yöresindeki Bazı Endemik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 67, Niğde.
84. Kumar, S., Dhankhar, S., Arya, V.P., Yadav, S. and Yadav, J.P. 2012. Antimicrobial Activity of *Salvadora oleoides* Decne. Against Some Microorganisms. *Journal of Medicinal Plants Research* 6(14): 2754-2760.
85. Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenovar, F.C. and Tenover, R.H. 1995. *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington D.C.
86. Saric, C.L., Cabarkapa, S.I., Beljkas, M.B., Misan, C.A., Sakac, B.M. and Plavsic, V.D. 2009. Antimicrobial Activity of Plant Extracts From Serbia. *Food Processing Quality and Safety* 1(2):1-5.
87. Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E. ve Özgen, U. 2009. Ceviz (*Junglans regia* L.)'in Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 39(1-2): 7-11.
88. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28: 49-55.
89. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The Determination of Flavonoid Contents in Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chemistry* 64: 555-559.
90. Loizzo, M.R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., Mastellone, V., Avallone, L. and Menichini, F. 2012. Radical Scavenging, Antioxidant and Metal

Chelating Activities of *Annola cherimola* Mill. Peel and Pulp in Relation to Their Total Phenolic and Total Flavonoid Contents. *Journal of Food Composition and Analysis* 25: 179-184.

- 91.** Arnao, M.B., Cano, A. and Acosta, M. 2001. The Hydrophilic and Lipophilic Contribution to Total Antioxidant Activity. *Food Chemistry* 73: 239-244.
- 92.** Prieto, P., Pineda, M. and Aguiler, M. 1999. Spectrophotometric Quantition of Antioxidant Capacity Through the Formation of A Phosphor Molybdenum Complex: Specific Application to the Determination of Vitamin E. *Analytical Biochemistry* 269: 337-341.
- 93.** Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of AFree Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie/Food Science and Technology* 28: 25-30.
- 94.** Berber, İ., Çine, N., Bozkurt, N. ve Elmas, E. 2013. Sinop'ta Yetişen Bazı Bitkilerin Metanolik Ekstraktlarının Antibakteriyal ve Antifungal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Karaelmas Science and Engineering Journal* 3(1): 10-16.
- 95.** Kürek, N. 2007. *Eryngium* Cinsine Ait (*Eryngium campestre* L., *E.creticum* Lam ve *E. thoriifolium* Boiss.) Saf Ekstraktlarının Antimikrobiyal Aktivitesi. Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp.59, Denizli.
- 96.** Aslan, A., Güllüce, M., Sökmen, M., Adıgüzel, A., Şahin, F. ve Özkan, H., 2006. Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Lichens *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri* and *Neofuscalia pulla*. *Pharmaceutical Biology* 44 (4): 247-252.

97. Rawat, S. 2016. North West Region of Nanda Devi Biosphere Reserves, Garhwal Himalaya with Unexplored Lichen Wealth and Its Medicinal Lichen Distribution in Different Aspect. *New York Science Journal* 9(9): 28-40.
98. Duman, D.C. 2009. Türkiye’de Bazı Liken Türlerindeki Usnik Asitn HPLC Yöntemi ile Değerlendirilmesi ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi* 66(4): 153-160.
99. http://www.ichastaliklaridergisi.org/managete/fu_folder/2009-04/html/2009-16-4-183-189.htm adresinden 07.06.2017 tarihinde edinilmiştir.
100. Öztan, T. 2006. Mor Havuç Konsantresi, Şalgam Suyu, Nar Suyu ve Nar Ekşisi Ürünlerinde Antioksidan Aktivitesi Tayini ve Fenolik Madde Profilinin Belirlenmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 93, İstanbul.
101. Okan, O.T., Varlıbaş, H., ÖzM. ve Deniz, İ. 2013. Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi* 13 (1): 48-59.
102. De Paz, G.A., Raggio, J., Gómez-Serranillos, M.P., Palomino, O.M., González-Burgos, E., Carretero, M.E. and Crespo, A. 2010. HPLC Isolation of Antioxidant Constituents from *Xanthoparmelia* spp. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53: 165–171.

ÖZGEÇMİŞ

Zeynep Karaahmet, 18 Mayıs 1984 yılında Giresun ilinde doğdu. İlköğretimi Giresun Cumhuriyet İlkokulunda, ortaöğretim ve lise eğitimini Giresun Hamdi Bozbağ Lisesinde tamamlamıştır. 2010 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Biyoloji Bölümünden 2014 yılında mezun oldu. 2014 yılında başlamış olduğu Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Yüksek Lisans programında öğrenim görmeye devam etmektedir.

