



ANKARA

HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**ANKARA’NIN KUZAYBATI İLÇELERİ (BEYPAZARI,
GÜDÜL, NALLIHAN) ORMANALTI ÖRTÜSÜNDE
YOĞUN OLARAK BULUNAN BRİYOFİT TÜRLERİ
ÜZERİNDEN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİFUNGAL
AKTİVİTELERİN ARAŞTIRILMASI**

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Güray UYAR**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ BİLİM DALI**

EYLÜL 2023



**ANKARA’NIN KUZHEYBATI İLÇELERİ (BEYPAZARI, GÜDÜL,
NALLIHAN) ORMANALTI ÖRTÜSÜNDE YOĞUN OLARAK
BULUNAN BRİYOFİT TÜRLEİ ÜZERİNDEN ANTİMİKROBİYAL
VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELEİİN ARAŞTIRILMASI**

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
BİYOLOJİ BİLİM DALI**

**ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2023

ETİK BEYAN

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

01/09/2023

TEZ ONAY SAYFASI

Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Biyoloji (Tzİ) Programı Gülen Nur Haşimoğlu öğrencisi tarafından hazırlanan Ankara'nın Kuzeybatı İlçeleri (Beypazarı, Gündül, Nallıhan) Ormanaltı Örtüsünde Yoğun Olarak Bulunan Briyofit Türleri Üzerinden Antimikrobiyal ve Antifungal Aktivitelerin Araştırılması başlıklı tez çalışması 01/09/2023 14:30 tarih ve saatinde yapılan tez savunma sınavında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile YÜKSEK LİSANS olarak **KABUL** edilmiştir.

	Kabul	Ret
Başkan : Prof. Dr. Güray Uyar Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi	☒	☐
Üye : Prof. Dr. Muhammet Ören Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi	☒	☐
Üye: Prof. Dr. Murat Demirbilek Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi	☒	☐

ANKARA’NIN KUZHEYBATI İLÇELERİ (BEYPAZARI, GÜDÜL, NALLIHAN)
ORMANALTI ÖRTÜSÜNDE YOĞUN OLARAK BULUNAN BRİYOFİT TÜRLERİ
ÜZERİNDEN ANTİMİKROBİYAL VE ANTİFUNGAL AKTİVİTELERİN

ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

ANKARA HACI BAYRAM VELİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Eylül 2023

ÖZET

Bu çalışmada Ankara’nın kuzeybatı ilçelerinde (Beypazarı, Gündül, Nallıhan) orman altı örtüsünde yoğun olarak bulunan, bazı karayosunu türlerinin (*Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp.) metil alkol, etil alkol, aseton ve kloroform çözücülerini kullanarak soxhlet cihazı ile elde edilen ekstraktları üzerinden, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 35218 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşlarına karşı antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Her bir örnek ve her bir çözgen için ayrı ayrı yaklaşık 6 saat süren ekstraksiyon işlemlerinin ardından elde edilen tüm ekstraktlar mikrobiyolojik testlere geçilene kadar, +4°C’de buzdolabında saklanmıştır. Antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesinde ise: Disk Difüzyon (DD) ve Agar Well Difüzyon (AWD) yöntemleri tercih edilmiştir. Karayosunu ekstraktları bakteriler için 7,0-14,0 mm, maya kültürü için 8,0-13,0 mm arasında değişen inhibisyon zonlarıyla tüm test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal ve antifungal aktivite göstermişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, kullanılan beş farklı karayosunu türünün farklı ekstraktlarından en çok etkilenen mikroorganizma ise *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu olmuştur. Ayrıca bu çalışmanın bize gösterdiği bir diğer önemli sonuç da çalışılan örneklerden *Grimmia montana* Bruch & Schimp. ve *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türlerinin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri açısından diğer türlere göre daha etkili olduğu görülmüştür.

Bilim Kodu : 20325
Anahtar :Antimikrobiyal, antifungal, karayosunu, Beypazarı, Gündül, Nallıhan,
Kelimeler Ankara
Sayfa Adedi : 65
Tez : Prof. Dr. Güray UYAR
Danışmanı

INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF
BRYOPHYTE SPECIES DENSELY FOUND IN THE FOREST COVER IN THE
NORTHWEST DISTRICTS OF ANKARA PROVINCE (BEYPAZARI, GÜDÜL,
NALLIHAN)

(M.Sc. Thesis)

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

ANKARA HACI BAYRAM VELİ UNIVERSITY
THE INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

September 2023

ABSTRACT

In this study, antimicrobial and antifungal activities of some mosses; (*Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp.) which are densely found in the forest cover in the northwest districts of Ankara (Beypazarı, Güdül, Nallıhan), by using the extracts obtained via methyl alcohol, ethyl alcohol, acetone, and chloroform solvents in soxhlet device, on *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 35218 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strains, were investigated. After the extraction processes for each sample and each solvent separately for about 6 hours, all the extracts obtained were stored in the refrigerator at +4 °C until microbiological tests.. In the determination of antimicrobial and antifungal activities: Disk Diffusion (DD) and Agar Well Diffusion (AWD) methods were preferred. The extracts of the mosses have exhibited antimicrobial activity against all tested microorganisms with inhibition zones ranged from 7.0 to 14.0 mm for bacteria, 8.0 to 13.0 mm for the yeast culture. According to the results obtained, the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain was the most affected microorganism by different extracts of five different moss species. In addition, another important result of this study is; among the studied moss species, *Grimmia montana* Bruch & Schimp and *Gymnostomum aeruginosum* are also more effective than other species in terms of antimicrobial and antifungal activities.

Science Code : 20325
Key Words : Antimicrobial, antifungal, moss, Beypazarı, Güdül, Nallıhan,
Ankara
Page Number : 65
Supervisor : Prof. Dr. Güray UYAR

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca benden ilgi ve emeğini esirgemeyen, birçok konuda yardımcı olan ve bana rehberlik eden kıymetli danışmanım Sayın Prof. Dr. Güray UYAR' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın kimya ve mikrobiyoloji deneylerinde her türlü ekipmanı sağlayan, süreci yakından takip eden, benden ilgi, öneri ve yardımlarını eksik etmeyen hocalarım Prof. Dr. Nazife ASLAN ve Uzm. Bio. Dr. Gülден VURAL' a çok teşekkür ederim.

Her konuda olduğu gibi beni tez sürecimde de destekleyen, cesaretlendiren, arazi çalışmalarımızda bize destek olan sevgili eşim, Osman Fatih HAŞİMOĞLU' na, biricik kızım ile özveriyle ve sevgiyle ilgilenen kayınvalideme ve kayınpederime, dualarını eksik etmeyen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim anneme ve babama çok teşekkür ederim.

Bu süreçte onu ihmal etmeme rağmen, sevgi dolu bakışlarıyla yolumu bekleyen ve sarılınca bütün yorgunluğumu unuttuğum canım kızım Neva' ya teşekkür ederim.

Gülen Nur HAŞİMOĞLU

Ankara, Eylül 2023

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Briyofitlerin Genel Özellikleri	3
2.2. Briyofitlerin Sınıflandırılması	5
2.2.1. Marchantiophyta (Ciğerotları)	6
2.2.2. Bryophyta (Karayosunları)	6
2.2.3. Anthocerotophyta (Boynuzotları)	7
2.3. Briyofitlerin Kullanım Alanları	8
2.4. Briyofitlerin Sentezlediği Antimikrobiyal Bileşenler	8
2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri	9
2.5.1. Soxhlet Cihazı İle Ekstraksiyon işlemi	9
2.5.2. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyon işlemi	9
2.5.3. Ultrason Ekstraksiyon işlemi	9
2.5.4. Mikrodalga Yardımı İle Ekstraksiyon işlemi.....	10
2.5.5. Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu	10

2.5.6. Blender İle Ekstraksiyon işlemi.....	10
2.5.7. Sıvı Azot İle Ekstraksiyon işlemi	10
2.6. Antimikrobiyal ve Antifungal Duyarlılık Testleri.....	10
2.6.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	10
2.6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK).....	11
2.6.3. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)	12
2.6.4 Minimum Fungisit Konsantrasyonu (MFK).....	12
3. MATERYAL VE METOT	13
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Deneyde Kullanılan Karayosunu Türleri.....	13
3.1.1.1. <i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp.	17
3.1.1.2. <i>Brachythecium rivulare</i> Schimp.	17
3.1.1.3. <i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm.	18
3.1.1.4. <i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs.....	19
3.1.1.5. <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay	19
3.1.2. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar	20
3.1.2.1. <i>Escherichia coli</i>	21
3.1.2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	21
3.1.2.3. <i>Candida albicans</i>	22
3.1.3. Deneyde Kullanılan Çözücüler	23
3.1.4. Soxhlet Cihazı Ve Döner Buharlaştırıcı	23
3.1.5. Deneyde Kullanılan Besiyeri	23
3.1.6. Diskler.....	24
3.2. Metot.....	24
3.2.1. Karayosunlarının Teşhisi	24
3.2.2. Karayosunlarının Ekstraksiyona Hazır Hale Getirilmesi	25

3.2.3. Ekstraksiyon İşlemi	27
3.2.3.1. Soxhlet cihazı ile ekstraksiyon.....	28
3.2.3.2. Döner buharlaştırıcı ile çözücülerin buharlaştırılması ve ekstraktların deriştirilmesi.....	30
3.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	32
3.2.4.1. Disk difüzyon ve agar well yöntemi süreci.....	32
3.2.4.1.1. Besiyeri hazırlığı	32
3.2.4.1.2. Mikroorganizmaların mcfarland standardizasyonu.....	32
3.2.4.1.3. Mikroorganizma inokülasyonu.....	32
3.2.4.1.4. Disklerin emdirilmesi ve agar well difüzyon uygulaması.....	33
3.2.4.1.5. Disklerin yerleştirilmesi/ kuyucuk açılması	33
3.2.4.2. İnkübasyon	33
3.2.4.3. İnhibisyon zonlarının ölçülmesi.....	34
3.2.4.4. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) uygulaması.....	34
3.2.4.5. Negatif kontrol	36
3.2.4.6. Pozitif kontrol	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	37
4.1. <i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm., <i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp., <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, <i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, <i>Brachythecium rivulare</i> Schimp., Ekstraktlarının <i>E. coli</i> Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri	37
4.2 <i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm., <i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp., <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, <i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, <i>Brachythecium rivulare</i> Schimp. Ekstraktlarının <i>S. aureus</i> Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri	41
4.3. <i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm., <i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp., <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, <i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, <i>Brachythecium rivulare</i> Schimp. Ekstraktlarının <i>C. albicans</i> Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri	45
4.4. Negatif kontrol.....	50

4.5. Pozitif kontrol.....	50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	50
6. ÖNERİLER.....	59
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	65



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bryobiotina alt âleminin, bitkiler âlemi ile evrimsel ilişkileri. (Glime, 2009).....	5
Çizelge 2.2. Briyofitlerin yapılarındaki fenolik bileşikler (**>100 bileşik; * 10–100 bileşik; *** <10 bileşik). (Shaw & Goffinet, 2000)	8
Çizelge 3.1. Teşhisi yapılan karayosunu türlerinin isimleri ve lokasyon bilgileri.....	14
Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan mikroorganizmalar.	20
Çizelge 3.3. Karayosunlarının kuru ağırlıkları.	27
Çizelge 3.4. Karayosunu türlerinin örnek miktarları, kullanılan çözücüler ve elde edilen ekstraktların hacimleri.	28
Çizelge 3.5. MİK uygulaması için mikropkaka üzerinde yapılan adlandırmaların temsili çizimidir.....	35
Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>E. coli</i> üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.	37
Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>E. coli</i> için MİK değerleri . A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlmek için doldurulan kuyucuklardır. 2.tüpten itibaren tüplerde kalan ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml) cinsinden hesap edilmiştir. Ekstraktı seyreltme sonucunda 2.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 50 µl ekstrakt, 3. tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 25 µl, 4. Tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 12,5 µl, 5.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 6.25 µl ekstrakt bulunmaktadır.....	40
Çizelge 4.3. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>S. aureus</i> üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.....	41
Çizelge 4.4. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>S. aureus</i> için MİK değerleri. A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlmek için doldurulan kuyucuklardır.	44
Çizelge 4.5. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>C. albicans</i> üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.....	45

Çizelge 4.6. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının <i>C. albicans</i> için MİK değerleri. A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlemek için doldurulan kuyucuklardır.	49
Çizelge 4.7. Negatif kontrol değerleri (mm) (-): zon oluşmamıştır. K: kuyucuk, D: disk.	50
Çizelge 5.1. <i>Escherichia coli</i> DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	52
Çizelge 5.2. <i>Escherichia coli</i> agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	52
Çizelge 5.3. <i>E. coli</i> üzerinde inhibisyon zon ölçümleri.	53
Çizelge 5.4. <i>Staphylococcus aureus</i> DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	54
Çizelge 5.5. <i>Staphylococcus aureus</i> agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	54
Çizelge 5.6. <i>S. aureus</i> ' a karşı inhibisyon zon ölçümleri.....	55
Çizelge 5.7. <i>Candida albicans</i> DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	56
Çizelge 5.8. <i>Candida albicans</i> agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)	56
Çizelge 5.9. <i>C. albicans</i> ' a karşı inhibisyon zon ölçümleri.	57

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Briyofitlerin yaşam döngüsü şema ile gösterilmiştir.	4
Şekil 2.2. Ciğerotlarının talluslu (a.) ve yapraklı (b.) formları.	6
Şekil 2.3. a: pleurokarp karayosunu örneği ve b: akrokarp karayosunu örneği.	7
Şekil 2.4. Boynuzotu örneği.	7
Şekil 2.5. Bir antibiyotığın MİK değerinin nasıl belirleneceği gösterilmektedir.	11
Şekil 2.6. MFK örneği (Izzo vd., 2020).	12
Şekil 3.1. Karayosunlarının toplandığı 20. ve 22. İstasyonun uydu görüntüsü.	15
Şekil 3.2. Karayosunlarının toplandığı 1. İstasyonun uydu görüntüsü.	15
Şekil 3.3. Karayosunlarının toplandığı 15. İstasyonun uydu görüntüsü.	16
Şekil 3.4. Beypazarı- EğriovaYaylası- Gölet kenarı.	16
Şekil 3.5. <i>Grimmia montana</i> ’ nın mikroskop altında görünümü.	17
Şekil 3.6. <i>Brachythecium rivulare</i> ’ nin mikroskop altında görüntüsü.	18
Şekil 3.7. <i>Gymnostomum aeruginosum</i> ’ un mikroskop altındaki görüntüsü.	18
Şekil 3.8. <i>Hygroamblystegium humile</i> ’ nin mikroskop altındaki görüntüsü.	19
Şekil 3.9. <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> ’ un mikroskop altındaki görüntüsü.	20
Şekil 3.10. <i>Escherichia coli</i> türünün mikroskop altındaki görüntüsü.	21
Şekil 3.11. <i>Staphylococcus aureus</i> türünün mikroskop altındaki görüntüsü.	22
Şekil 3.12. <i>Candida albicans</i> türünün mikroskop altındaki görüntüsü.	22
Şekil 3.13. Soxhlet cihazının genel görünümü.	23
Şekil 3.14. Steril antimikrobiyal boş disk.	24
Şekil 3.15. Distile su ile yıkanmış ve kurutulan karayosunları (a, b, c).	26
Şekil 3.16. Darası alınmış bir Soxhlet balonunda tartılan bitki örneği.	29
Şekil 3.17. Bitki ekstraktlarının süzülmesi ve numune kaplarına alınması (a, b).	29
Şekil 3.18. Ekstraktların döner buharlaştırıcıda (Rotary evaporatör) çözücüsünün uzaklaştırılması (a, b).	30

Şekil 3.19. Ependorf tüpe alınmış derişik ekstrakt	31
Şekil 3.20. Asetonlu ve kloroformlu ekstraktların laboratuvar koşullarında çözücülerinin buharlaşması	31
Şekil 3.21. MİK için şematize seyreltme metodu (100 µl= 0.1 ml). 2.tüpten itibaren tüplerde kalan ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml) cinsinden hesap edilmiştir. Ekstraktı seyreltme sonucunda 2.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 50 µl ekstrakt, 3. tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 25 µl, 4. Tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 12,5 µl, 5.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 6.25 µl ekstrakt bulunmaktadır.	35
Şekil 4.1. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i> , B.r: <i>Brachytheций rivulare</i> , P.p: <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> , H.h: <i>Hygroamblystegium humile</i>	38
Şekil 4.2. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i> , Eritromisin: Antibiyotik.	39
Şekil 4.3. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	39
Şekil 4.4. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	39
Şekil 4.5. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i> , B.r: <i>Brachytheций rivulare</i> , P.p: <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> , H.h: <i>Hygroamblystegium humile</i>	42
Şekil 4.6. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i> , Eritromisin: Antibiyotik.	43
Şekil 4.7. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	43
Şekil 4.8. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	43
Şekil 4.9. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının <i>Candida albicans</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i> , B.r: <i>Brachytheций rivulare</i> , P.p: <i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> , H.h: <i>Hygroamblystegium humile</i> , Flukanazol: Antibiyotik.	47

Şekil 4.10. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının <i>Candida albicans</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	47
Şekil 4.11. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının <i>Candida albicans</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	48
Şekil 4.12. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının <i>Candida albicans</i> üzerine etkisi. G.a: <i>Gymnostomum aeruginosum</i> , G.m: <i>Grimmia montana</i>	48



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar ve simgeler, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
ATCC	American Type Culture Collection
AWD	Agar Well Difüzyon
<i>B. rivulare</i>	<i>Brachyothecium rivulare</i>
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
DDY	Disk Difüzyon Yöntemi
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>G. aeruginosum</i>	<i>Gymnostomum aeruginosum</i>
<i>G. montana</i>	<i>Grimmia montana</i>
<i>H. humile</i>	<i>Hygroamblystegium humile</i>
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MFK	Minimum Fungisit Konsantrasyonu
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
<i>P. pseudotriquetrum</i>	<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SDA	Sabouraud Dekstrozu Agar
SDB	Sabouraud Dekstrozu Broth

Simgeler**%****°C****µl****µm****g****mg****mL****dk****cm****m****dH₂O****mm****Açıklamalar**

Yüzde simgesi

Celcius derece

Mikrolitre

Mikrometre

Gram

Miligram

Mililitre

Dakika

Santimetre

Metre

Distile su

Milimetre

1. GİRİŞ

Dünya genelinde hızla artan salgın hastalıklarla mücadele, gün geçtikçe daha da zor hale gelmiştir. Bu mücadele sürecinde gelişen teknoloji ile birçok sentetik ilaç üretimi olsa da bunların bir noktadan sonra yeterli gelmemesi, bakterilerin zamanla antibiyotiklere direnç kazanması vb. durumlar bilim insanlarını yeni antimikrobiyal maddelerin araştırılmasına yöneltmiştir.

Bu tez çalışmasında, daha önce antimikrobiyal ve antifungal bir çalışmaya konu olmamış beş karayosunu türünün (*Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp.), gram (-)' leri temsilen *Escherichia coli* ATCC 35218, gram (+)' leri temsilen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve mantarları temsilen *Candida albicans* ATCC 10231 suşları üzerinden antimikrobiyal ve antifungal etkileri araştırılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

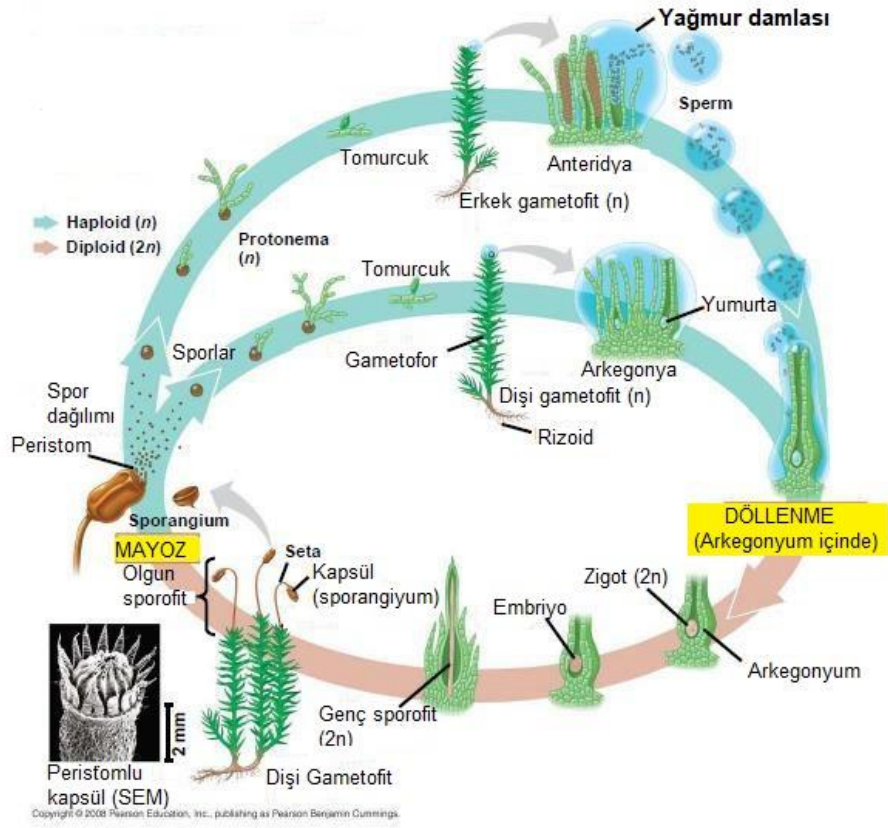
2.1. Briyofitlerin Genel Özellikleri

Briyofitler, Paleozoik çağın Devoniyen döneminde ortaya çıkmış, yüksek bitkilerinki gibi gerçek bir kök ve iletim sistemleri olmayan tohumuz basit yapılı ilk kara bitkileri olarak kabul edilirler. Değişkenlik gösteren iklim koşullarına karşı hayatta kalmayı başarmakta ve halen evrimleşmeye devam etmektedirler (Anand & Langer, 2015).

Bitkinin habitatında, göz alıcı bir şekilde yeşil renkte görünen kısımları, gametofit yapılarıdır. Rizoit adı verilen tek veya çok hücreli kök benzeri yapı, gametofitlerin çevreye yerleşmesini sağlar. Hakim olan gametofit bitki, iletim demetlerinden yoksun olduğundan bitkinin gövdesi, kaulit (gövdeimsi yapı) olarak isimlendirilir. Benzer gerekçeyle, briyofitlerin yaprakları da gerçek bir yaprağın özelliklerini sergilemediğinden, onlara da fillit (yapraksı yapı) adı verilmiştir. Bazı ciğerotları gruplarında ve boynuzotlarında ise bitki tallus yapısındadır. Ayrıca bitkinin gametofit yapısında stoma bulunmadığı için gaz değişimini ve su kaybını kontrol edemezler. Bu nedenle, fotosentezi gerçekleştirme ve su ile mineralleri alma işlemi için bütün yüzeylerini kullanırlar. Bu özelliklerinden dolayı briyofitler, poikilohidrik bitkiler olarak adlandırılırlar (Glime 2009, Goffinet and Shaw 2009).

Hayat döngülerinde haploit (n) gametofit dölün, diploit (2n) sporofit dölü takip ettiği haplodiplont bir döl almaşı görülmektedir. Dişi ve erkek gametler ise, gametofit bitki üzerindeki gametangiumlarda üretilir. Erkek gametler (sperm), arkegonyum içindeki yumurta hücresine kemotaksi ile ulaşmak için yağmur sularına ihtiyaç duyar. Sonrasında sperm ve yumurta hücresinin döllenmesiyle oluşan zigot, mitozla embriyoya o da gelişerek sporofit bitkiye dönüşür. Gametofit bitkiyi terk etmeyen sporofit bitki, gametofitten beslenir. Olgunlaşan sporofitler sporangiumlarında bulunan spor ana hücrelerinin (2n) mayoz bölünme geçirmesiyle haploid (n) sporları oluştururlar.

Oluşan sporlar farklı karayosunu gruplarında değişik spor dağılım mekanizmalarıyla etrafa dağıtılırlar. Sporlar düştükleri ortamlarda çimlenme için uygun şartları bulduklarında ipliksi protonemayı oluşturur. Protonema da büyüyerek gametofit bitkinin tekrardan oluşmasını sağlar. Böylece yaşam döngüsü tamamlanmış olur (Şekil 2.1.).

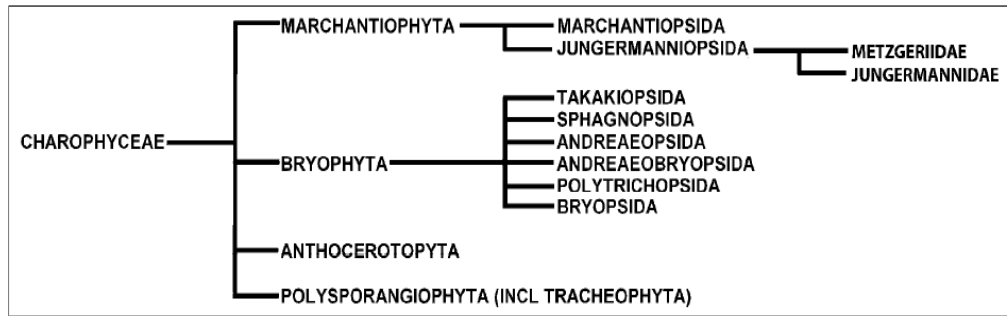


Şekil 2.1. Briyofitlerin yaşam döngüsü şema ile gösterilmiştir.
Edition, E. (2008). Meiosis and Sexual Life Cycles.

Briyofitler karasal bitkiler olarak dünyanın farklı iklimlerinde geniş bir dağılıma sahip olmakla birlikte, yaşam döngülerinde spermatozoidin yumurtaya ulaşabilmesi için suya ihtiyaç duyduğundan, genellikle su kenarlarında veya bazen tamamen su altında yaşarlar. Denizlerin kıyılarında bulunabilmelerine rağmen hiçbir türü tuzlu deniz suyunda yaşayamaz. Genellikle ılıman iklime sahip bölgelerde, tatlı su kenarlarında ve gölgelik alanlarda bulunmayı tercih etmelerine rağmen, bazen de birçok bitkinin hayatını sürdüremediği, kurak ortamlarda su kaybetseler bile kolayca su alıp şişme özellikleriyle bu ekstrem koşullarda da yaşamlarını sürdürebilmektedirler (Schofield, 2001).

2.2. Briyofitlerin Sınıflandırılması

Canlılar arasındaki evrimsel akrabalık, yapılan çalışmalar sonucu yeniden değerlendirildiğinde briyofitler, Bryobiotina alt alemi (subkingdom) içinde üç bölümde sınıflandırılmışlardır. Bunlar; Anthocerotophyta (Boynuzotları, yaklaşık 150 tür), Marchantiophyta (Ciğerotları, yaklaşık 5.000 tür), ve Bryophyta (Karayosunları, 13.000 tür) bölümlerine ayrılmıştır. Bu durum çizelge 2.1.' de gösterilmektedir (Glime, 2009; Shaw and Goffinet, 2000). Briyofitlerin 400 milyon yıl öncesine ait ilk fosil kaydı *Hepaticies devonicus* cinsi küçük yapraklı ciğerotunun tallusudur. Günümüzde mevcut olan briyofitlerin tam olarak atası bilinmemektedir. Bununla birlikte diğer fosil kayıtları incelendiğinde briyofitlerin yaklaşık 450 milyon yıl önce evrimleştiği düşünülmektedir (Şimşek vd., 2016). Briyofitlerin varoluşuyla ilgili çeşitli hipotezler ortaya atılmıştır. Bunlardan biri; onların yeşil alglerle ortak atayı paylaştıkları düşüncesidir. Böyle düşünülmesinin nedeni briyofitlerin protonemaları ipliksi alglere benzer olmasıdır (Turmel vd., 2020). Charophyceae ve Chlorophyceae olarak; yeşil algler iki evrimsel kola ayrılır; Bu hipotez ışığında briyofitler ve dişi organa(arkegonium) sahip diğer çiçeksiz bitkiler Charophyceae kolundan türediği düşünülmüştür. Bir diğer hipotez ise, yeşil algin gelişerek nemli toprağa uyumlu hale gelmesi ve dişi organa sahip çiçeksiz bitkilerin Charophyta alglerinin temeli olabileceği düşüncesidir (Schofield, 2001). Son olarak günümüze kadar gelen bir diğer hipotez ise, briyofitlerin ilkel damarlı bitkilerden evrimleştiğidir.



Çizelge 2.1. Bryobiotina alt âleminin, bitkiler âlemi ile evrimsel ilişkileri. (Glime, 2009).

2.2.1. Marchantiophyta (Ciğerotları)

Ciğerotları, 391 cinste yaklaşık 5000 tür içerdiği tahmin edilen küçük, otsu, karasal bitkiler topluluğunun bir bölümüdür. Genellikle doğal alanlarda bulunmakla birlikte akarsu kıyılarında, yol kenarlarında, kayalar, kütükler ve ağaçlar dahil olmak üzere çeşitli habitatları işgal ederler. Ciğerotlarında sporofit kısa ömürlüdür. Üremek için suya ihtiyaç duyarlar. Ciğerotları sitolojik, biyokimyasal ve anatomik özellikler bakımından boynuzotlarından ve karayosunlarından farklıdır. Bölümün önemli tanınal karakterleri şunlardır: Sıralı yaprak düzenine sahiptirler, yaprakları düz bir görünümündedir; rizoidleri tek hücreli, ince duvarlı ve genellikle hiyalindir (Goffinet, 2008). Tallus formda veya yapraklı formda bulunabilirler (Şekil 2.2.). Karayosunlarının aksine çoğu ciğerotunun hücresinde yağ damlacıkları bulunmaktadır.



a.



b.

Şekil 2.2. Ciğerotlarının talluslu (a.) ve yapraklı (b.) formları.

(<http://moss-notes.blogspot.com/2011/12/what-is-liverwort.html>)

2.2.2. Bryophyta (Karayosunları)

Bryophyta sınıfı yaklaşık 13.000 tür içerir. Embriyofitlerin (kara bitkileri) içinde çeşit bakımından ikinci sıradadır. Karayosunları, Ciğerotları ve Boynuzotları gibi haplodiplobiontik yaşam döngüsüne sahiptir (Goffinet, 2008). Karayosunları gametofitlerinin ve sporofitlerinin konumuna, gelişimine göre pleurokarp ve akrokarp olmak üzere iki grupta incelenir. Buna göre pleurokarp karayosunlarında, gametofit yüzeye genellikle paraleldir ve yan dalları vardır; Sporofitleri ise gametofite diktir ve ana gövdede, tomurcuk şeklindeki yan dallar üzerinde bulunur.

Akrokarp karayosunlarında ise durum farklıdır; gametofit yüzeye dik olarak gelişir ve sporofitleri gametofitin veya ana dalların ucunda bulunur (Şekil 2.3.).



a.

b.

Şekil 2.3. a: pleurokarp karayosunu örneği ve b: akrokarp karayosunu örneği.
(<http://moss-notes.blogspot.com/2011/12/acrocarp-vs-pleurocarp.html>)

2.2.3. Anthocerotophyta (Boynuzotları)

Boynuz benzeri sporofitlerinden dolayı boynuzsuz ciğerotları denilmektedir (Şekil 2.4.). Yaprak benzeri görünüme sahip tallus formda gametofitleri bulunmaktadır. Sporangium kuruyup bükülerek açılır ve olgulaşan sporlar serbest kalır. Sporofitlerinde stoma bulunmaktadır. Gametofitlerini oluşturan hücrede bir tane kloroplast bulunmaktadır (Hyvönen & Piippo, 1993).



Şekil 2.4. Boynuzotu örneği.
(<https://ucmp.berkeley.edu/plants/anthocerotophyta.html>)

2.3. Briyofitlerin Kullanım Alanları

Briyofitler, antibakteriyel, antioksidan, antikanser, antifungal, antidepresan ve sitotoksik gibi birçok etkiye sahip kimyasal bileşenleri sayesinde yüzyıllardır geleneksel tıp alanında şifalı bitkiler olarak kullanılmışlardır. Örneğin yanıkların, kesiklerin ve deri hastalıklarının iyileşmesinde merhem ve sargı bezi olarak; bronşit ve idrar yolu enfeksiyonu hastalıklarının tedavisinde ekstraksiyonları ilaç olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda atık suların arıtılmasında biyofiltrasyon malzemesi olarak, hava kirliliği ölçümünde biyomonitör olarak, ısınma amaçlı kullanılan turbanın elde edilmesiyle de yakıt olarak piyasada yaygın bir şekilde kullanılmaktadırlar (Altuner, 2008).

2.4. Briyofitlerin Sentezlediği Antimikrobiyal Bileşenler

Briyofitlerin yaralara, yanıklara, enfeksiyonlara vb. durumlara antimikrobiyal açıdan iyi gelmesinin en önemli sebebi olan yapılarındaki fenolik bileşikler Çizelge 2.2.' de gösterilmiştir.

Fenolik bileşikler, yapısal olarak aromatik bir halkaya (benzen) bir veya daha fazla hidroksil gruplarının direkt olarak bağlanmasıyla oluşan moleküllerdir (Hazer, 2017).

Bileşik sınıfları	Çiğerothu	Boynuzsu çiğerothu	Karayosunları
Flavonoidler	**	Ø	**
Benzoik ve sinamik asit türevleri	*	***	*
Bibenzil, bisbibenzil, bisbibenzil dimerleri, stiben ve ilişkili bileşikler	**	Ø	***
Asetofenonlar	***	Ø	Ø
Lignanlar	*	***	Ø
Kumarinler, izokumarinler, kumestan	***	Ø	*

Çizelge 2.2. Briyofitlerin yapılarındaki fenolik bileşikler (**>100 bileşik; * 10–100 bileşik; *** <10 bileşik). (Shaw & Goffinet, 2000)

2.5. Ekstraksiyon Yöntemleri

Genel olarak bitkilerin özünü, içeriğindeki antimikrobiyal bileşenleri elde edebilmek için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Amaca uygun şekilde ekstraksiyon işlemi yaparken aktif bileşiklerin zarar görmemesi için çok dikkat edilmelidir (Sasidharan vd., 2012).

Ekstraksiyon yöntemleri aşağıda sıralanmıştır;

- Soxhlet cihazı ile ekstraksiyon
- Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
- Ultrason ekstraksiyonu
- Mikrodalga yardımı ile ekstraksiyon
- Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
- Blender ile ekstraksiyon
- Sıvı azot ile ekstraksiyon

2.5.1. Soxhlet Cihazı İle Ekstraksiyon işlemi

Bu yöntem, bitkilerin yapısındaki bileşenleri elde etmede kullanılan yaygın bir yöntemdir. Soxhlet düzeneğine bağlı steril cam balon içine çözücü ve çözünmesini istediğimiz bitki örneği, ısıtıcı tabla üzerinde 6-8 saat kadar kaynamaya bırakılır, çözeltideki etken maddelerin sürekli bir kaynama ve yoğunlaşma döngüsü içinde çözücüye geçmesi sağlanır. Elde edilen ekstrakt, süzgeç kağıdından geçirilir ve kaba partiküllerinden kurtarılır (Adeniyi & Odufowora, 2000).

2.5.2. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyon işlemi

Bu yöntemde çözücü maddenin yüksek hidrostatik basınç altında, örnek içindeki etken maddenin çözücüye geçmesi sağlanır (Shouqin vd., 2005).

2.5.3. Ultrason Ekstraksiyon işlemi

Ultrason ekstraksiyon yöntemi, ses dalgalarının kullanılarak bitki özleri, yağlar veya biyoaktif bileşenleri gibi çeşitli maddelerin dışarı çıkarılması veya ayıklanması prensibine dayanır (Palma & Barroso, 2002).

2.5.4. Mikrodalga Yardımı İle Ekstraksiyon işlemi

Bu yöntemde, mikrodalgaların enerjisiyle örnekler içindeki etken maddelerin çözücüye geçmesi sağlanır (Pan vd., 2003).

2.5.5. Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu

Çevre dostu olan bu yöntemde karbondioksit, su, bütan, azot oksit, etan, triflometan ve amonyak süper kritik sıvılardır. Bu yöntem ile ürünün kritik sıvı içinde çözünmesi ve basınç azaltılarak ürünün sıvıdan ayrılması esas alınır (Çolak & Tülek, 2003).

2.5.6. Blender İle Ekstraksiyon işlemi

Çözücü içine konulan ürünün blender ile parçalanması ve çözücü içinde çözünmesi hedeflenir.

2.5.7. Sıvı Azot İle Ekstraksiyon işlemi

Makro büyüklükteki bitki örnekleri sıvı azot kullanılarak dondurulur, toz haline getirilir ve çözücü içine atılarak zaman içinde çözünmesi ve etken maddenin elde edilmesi hedeflenir (Dostbil & Ağaoğlu, 2003).

2.6. Antimikrobiyal ve Antifungal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal etkinin saptanmasında çeşitli yöntemler uygulanılmaktadır. Amaç antimikrobiyal ajanın bakteri türlerine karşı etkisini bulmaktır. Disk difüzyon testi, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK), Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) ve Minimum Fungisit Konsantrasyonu (MFK) yöntemleri antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerin belirlenmesinde sıklıkla kullanılır.

2.6.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Kirby-Bauer tarafından geliştirilen bu yöntem ile aktif bileşenin bakterilere karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmaktadır. Bu yöntem ucuz ve basit bir kullanıma sahiptir (Abbasoğlu, 1996).

Bu testin uygulanışı sırasıyla şöyle olmaktadır;

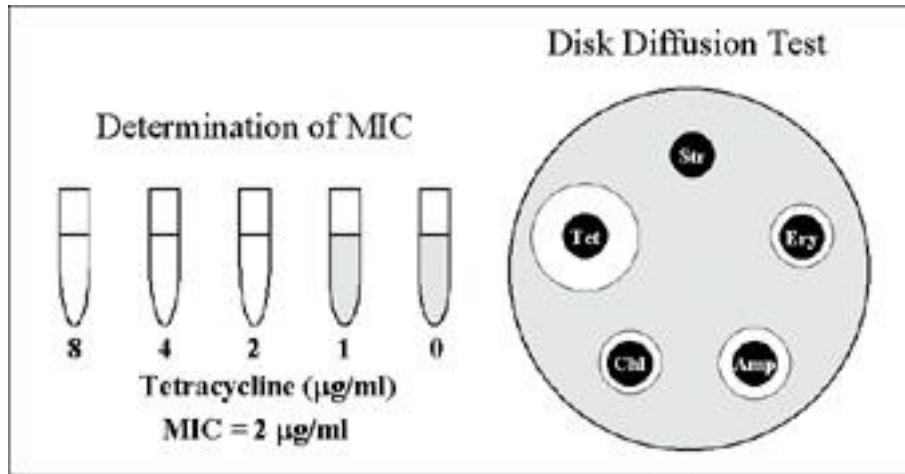
- antimikrobiyal duyarlılığı test edilen mikroorganizmalar için uygun bir besiyeri olan Mueller Hinton Agar (MHA) hazırlanır ve petri kaplarına dökülür.
- Mikroorganizma örnekleri, 0.5 McFarland standartı kullanılarak standardize edilir.

- Sıvı kültürden alınan mikroorganizma, petrideki katı besiyeri yüzeyine belli bir açıyla sürülerek ekilir.
- Bu sırada elde edilen ekstrat, kağıt disklerle emdirilerek besiyeri üzerine yerleştirilir ve zamanla disklerin agar içine çözünerek difüze olması beklenir.
- 37 °C de, 18-24 saat inkübe edilen petri kaplarında mikroorganizmaların üreme yoğunluğu takip edilir.
- Etkisi araştırılan antimikrobiyal maddenin neden olduğu zonlar ölçülerek, aktivitenin ne oranda olduğu tespit edilir.
- Sonuç olarak, mikroorganizmanın çevresinde oluşan zonun çapı ne kadar büyük olursa; antimikrobiyal maddenin etkisi o kadar fazladır.

2.6.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) mikroorganizmanın büyümesini tamamen engelleyen veya inhibe eden en düşük miktardır.

Bu testlerde, mikroorganizmalar farklı konsantrasyonlardaki antibiyotik veya antifungal ilaçların bulunduğu besiyerlerine eklenir. Ardından, mikroorganizmaların büyümesi gözlemlenir ve MİK, büyümenin tamamen durduğu veya en az seviyeye indiği en düşük konsantrasyon olarak belirlenir (şekil 2.5.) .



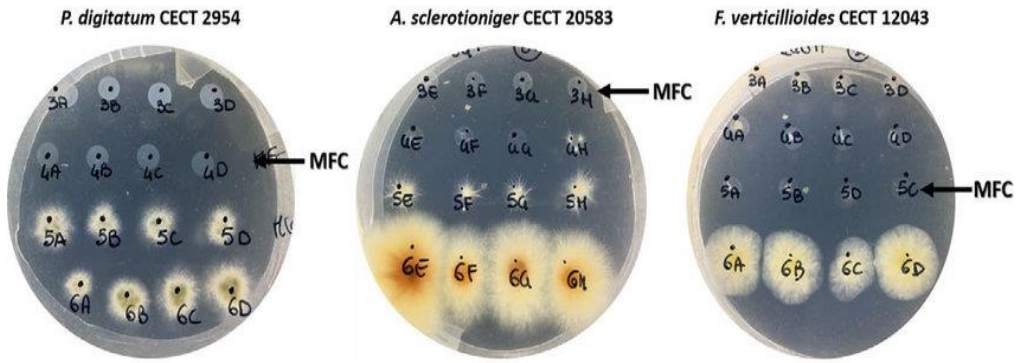
Şekil 2.5. Bir antibiyotikğin MİK değerinin nasıl belirleneceği gösterilmektedir.
(<https://www.microbiologybook.org/Turkish-bact/bactchapter6turk.htm>)

2.6.3. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)

Minimum bakterisidal konsantrasyonu (Minimum Bactericidal Concentration, MBC), bir mikroorganizmanın tamamen öldürüldüğü en düşük konsantrasyonu ifade eder. MBK testi genellikle laboratuvar ortamında yapılır ve belirli bir antimikrobiyal ajanın farklı konsantrasyonlarının mikroorganizma kültürlerine uygulanmasıyla gerçekleştirilir (Sümerkan & Gökahmetoğlu, 1998).

2.6.4 Minimum Fungisit Konsantrasyonu (MFK)

Minimum Fungisit Konsantrasyonu (MFK), mantar hücrelerinin tamamen ölmesine veya büyümenin engellenmesine neden olan en düşük antifungal konsantrasyonunu ifade eder. (Majoros vd., 2005) (Şekil 2.6.)



Şekil 2.6. MFK örneği (Izzo vd., 2020)

3. MATERYAL VE METOT

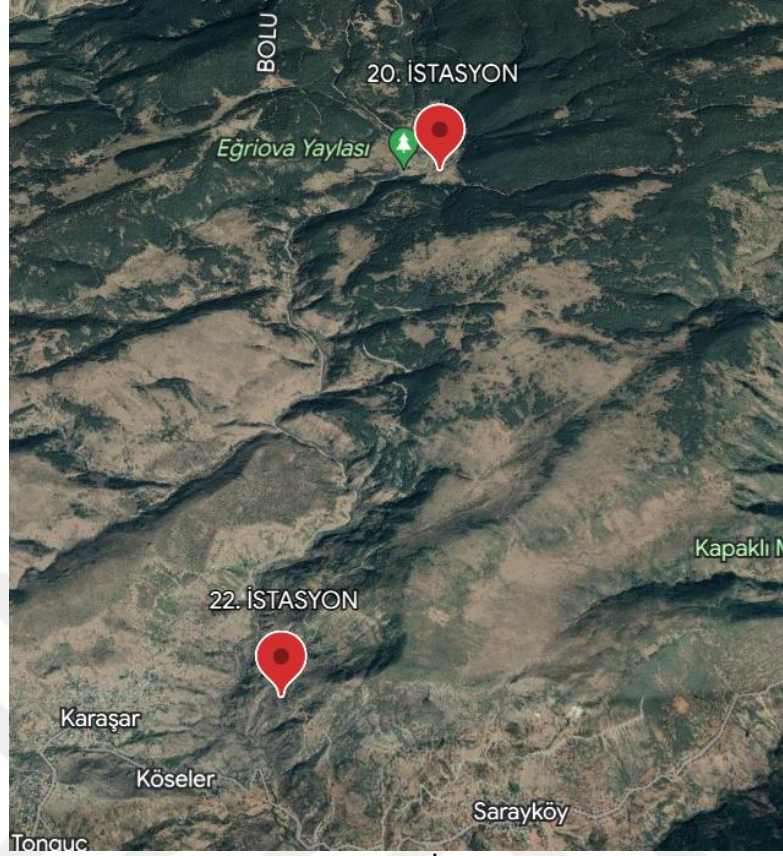
3.1. Materyal

3.1.1. Deneyde Kullanılan Karayosunu Türleri

Ankara' nın kuzeybatı ilçelerinden (Beypazarı, Güdül, Nallıhan) Şimdiye kadar antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri araştırılmamış, orman altı örtüsünde yoğun olarak bulunan briyofit türlerinin toplanması hedeflenmiştir. Ancak arazi çalıŐmaları sırasında alanda bol bulunan örneklerin karayosunu olması nedeniyle çalışılan tüm örnekler, briyofitlerin karayosunları bölümüne aittir. Toplanan türler, Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Biyoloji bölümü Botanik Anabilim dalı  Ėretim  yesi Prof. Dr. Güray UYAR tarafından teşhis edilmiştir. Teşhisi yapılan karayosunu türlerinin isimleri ve lokasyon bilgileri  izelge 3.1.' de verilmiştir.

Familiya	Karayosunu Türleri	İstasyonlar
Pottiaceae	<i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm.	1. istasyon 40°14'17.2"N 32°15'44.4"E Güdül-Sorgun Yaylası yolu üzeri- Yeşilöz Vadisi- Çay Kenarı 693 m kum üzeri
Amblystegiaceae	<i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs	1. istasyon 40°14'17.2"N 32°15'44.4"E Güdül-Sorgun Yaylası yolu üzeri- Yeşilöz Vadisi- Çay Kenarı 693 m Ağaç üzeri
Bryaceae	<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay	15. istasyon 40°03'11.0"N 031°24'23.7"E Sarıyar Beldesi/Nallıhan Karışık Orman 469 m Toprak ve kaya üzeri
Grimmiaceae	<i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp.	20. istasyon 40°22'16.3"N 032°01'33.5"E Beypazarı- EğriovaYaylası- Gölet kenarı 1395 m Orman altı-kaya üzeri
Brachytheciaceae	<i>Brachythecium rivulare</i> Schimp.	22. istasyon 40°21'01.6"N 32°00'35.1"E Beypazarı-Karaşar, Eğriova göleti arası – dere kenarı 1265 m kaya üzeri

Çizelge 3.1. Teşhisi yapılan karayosunu türlerinin isimleri ve lokasyon bilgileri.



Şekil 3.1. Karayosunlarının toplandığı 20. ve 22. İstasyonun uydu görüntüsü.



Şekil 3.2. Karayosunlarının toplandığı 1. İstasyonun uydu görüntüsü.



Şekil 3.3. Karayosunlarının toplandığı 15. İstasyonun uydu görüntüsü.



Şekil 3.4. Beypazarı- EğriovaYaylası- Gölet kenarı.

3.1.1.1. *Grimmia montana* Bruch & Schimp.

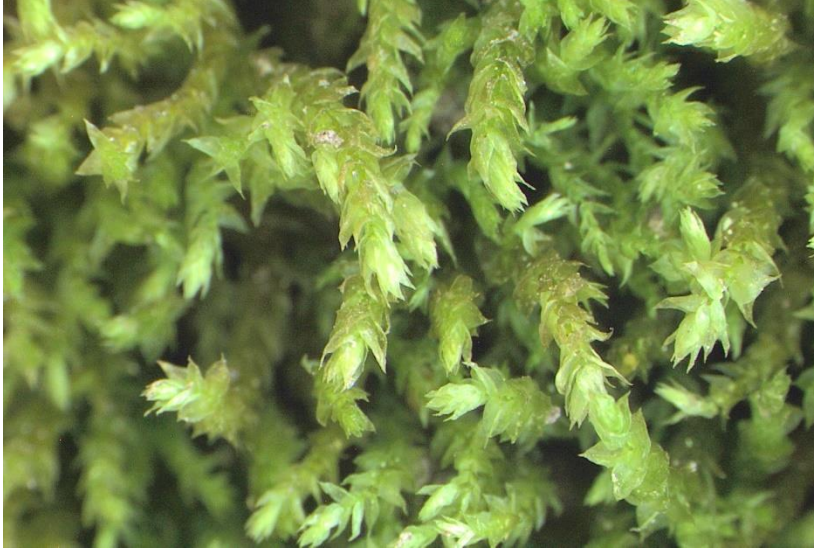
Grimmia montana Bruch & Schimp., akrokarp bir karayosunu türüdür. İngilizcede "Sun Grimmia" olarak bilinir. Boyları 1 cm ye kadar uzayabilen bu tür, koyu yeşil ile siyahımsı, kurduğunda ise ağarmış şekilde görülür. Yaprakları nemliken dik-açık, kurduğunda esnektir. Çoğunlukla güney cepheli, güneşli ortamlarda, asidik ve bazik kayalar üzerinde bulunurlar. İlkbaharda olgunlaşan nadir kapsüller, oval şekilde ve peristom dişlere sahiptir. Avrupanın kuzeyinde bulunan Fennoscandia, İzlanda, Kafkaslar, Türkiye, Asya, Çin, Makaronezya, Fas, Batı K. Amerika, Grönland, Meksika da yaygındır (Smith, 2004).



Şekil 3.5. *Grimmia montana*'nın mikroskop altında görünümü.

3.1.1.2. *Brachythecium rivulare* Schimp.

Brachythecium rivulare, pleukarp bir karayosunu türüdür. İngilizcede 'River Feather-moss' olarak bilinir. 12 cm ye kadar uzayan sürgünler halinde, düzensiz dallanmış şekilde, parlak-soluk yeşil veya sarımsı yeşil renkte görünürler. Yapraklar kuruyken dik veya üst üste biner; nemliken üst üste biner. Kapsülleri eğimli, oval şekildedir ve konik bir kapağa sahiptir. Hızlı akan dereler ve nehirler içindeki ve çevresindeki kayalar, kütükler ve ağaç gövdeleri üzerinde, nemli ormanlık alanlarda bulunur. Avrupa'nın kuzeyinde bulunan Fennoscandia, Faeroes, Kıbrıs, Türkiye, Makaronezya, Asya, İzlanda, Kenya, G. Amerika, Kafkaslar Grönland, Kerguelen, Şili, Avustralya, de yaygındır (Smith, 2004).



Şekil 3.6. *Brachythecium rivulare*’ nin mikroskop altında görüntüsü.

3.1.1.3. *Gymnostomum aeruginosum* Sm.

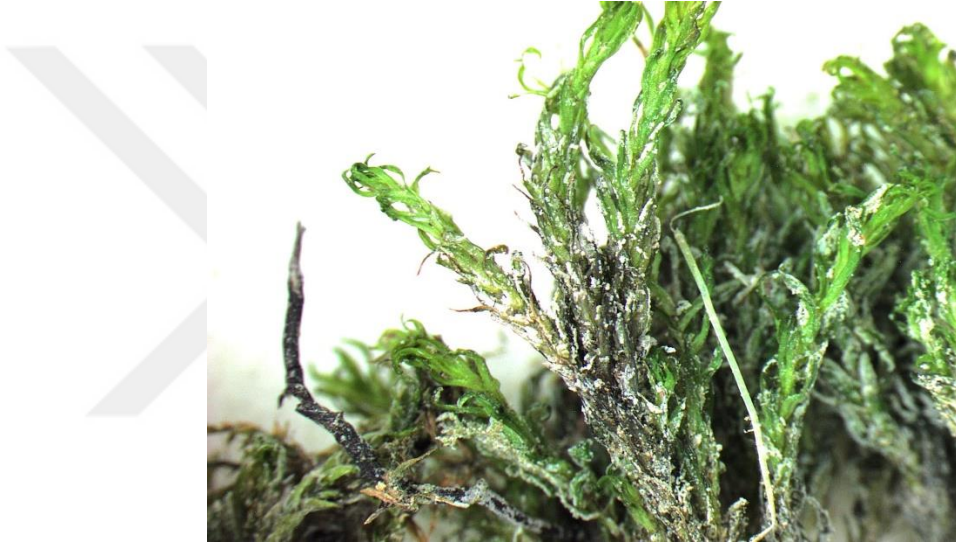
Gymnostomum aeruginosum akrokarp bir karayosunu türüdür. İngilizcede ‘Verdigris Tufa-moss’ olarak bilinir. 0,5 ila 8,0 cm ye kadar uzayabilen bu tür, üst tarafı donuk yeşil ve altlara doğru kırmızımsı kahverengi olan püsküllü bir görünüme sahiptir. Yapraklar kuruyken kıvrık, nemliyken dik ve doğrusaldır. Kosta yaprak tabanına yakın 60–110 µm genişliğinde, yaprağın üst kısmındaki hücreler (8–)10–14 µm enindedir. Kapsülleri elipsoid şekildedir ve yaz sonu, sonbahar gibi gelişir. Nemli kayaların üzerinde, vadilerde, kıyı kayalıklarında, eski duvarlarda bulunur. Avrupa’nın kuzeyinde Fennoscandia, Faeroes, Kanarya Adaları, İzlanda, Kafkasya, Çin, Japonya, Türkiye, Yeni Gine, Madeira, Amerika ve Peru da yaygındır (Smith, 1978/2004, p. 310).



Şekil 3.7. *Gymnostomum aeruginosum*’ un mikroskop altındaki görüntüsü.

3.1.1.4. *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs

Hygroamblystegium humile, pleukarp bir karayosunu türüdür. İngilizcede ‘Constricted Feather-moss’ olarak bilinir. Orta büyüklükte, düzensiz, dağınık sürgünleri vardır. Gövde yapraklarının boyu yaklaşık 1,5 mm'dir. Kapsüllerinin boyu 2-4 cm ye kadar gelişebilir. Genellikle bataklıklarda ve çamurlu yerlerde, özellikle havuz kenarlarında, toprakta ve ağaç tabanlarında yetişir. Bununla birlikte, akarsu kenarındaki taşlarda ve siltli kıyılarda da görülebilir. Avrupa'nın kuzeyinden İskandinavya'ya ve Arktik Rusya'ya kadar, Akdeniz bölgesinde enderdir. Madeira, Türkiye ve İran da yaygın olarak bulunur (Blockeel, 2010).



Şekil 3.8. *Hygroamblystegium humile*’nin mikroskop altındaki görüntüsü.

3.1.1.5. *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay

Ptychostomum pseudotriquetrum, akrokarp bir karayosunu türüdür. İngilizcede ‘Marsh Bryum’ olarak bilinir. Birkaç santimetreye kadar uzayabilen sürgenleri, yeşil ila kırmızımsı veya kahverengi tutamlar içerir. Kapsülleri bükük, yaz ve sonbaharda olgunlaştıklarında kahverengidir. Oldukça sık, büyük (3,5 mm uzunluğunda) ve uzun bir seta (2-3 cm) üzerinde taşınırlar. Bataklıklarda, göl kenarındaki nemli topraklarda, kumul yüzeyde ve ıslak kaya üzerlerinde bulunurlar. Kuzey Kutbu'ndan Akdeniz bölgesine kadar uzanır. Başka yerlerde, Antarktika da dahil olmak üzere hem Kuzey hem de Güney Yarımküre'nin ılıman ve soğuk bölgelerinde yaygındır (Holyoak, 2014).



Şekil 3.9. *Ptychostomum pseudotriquetrum* ' un mikroskop altındaki görüntüsü.

3.1.2. Deneyde Kullanılan Mikroorganizmalar

Karayosunlarının antimikrobiyal aktivitesini araştırmak ve etkinliğini saptamak amacıyla bazı mikroorganizmaların, kullanılan kimyasal bileşene olan tepkisi gözlemlenmiştir. Bu aktivasyon için çok sayıda mikroorganizma çeşidi içinden; Çizelge 3.2' de belirtilen bakterilerden *Escherichia coli* gram (-), *Staphylococcus aureus* gram (+) ve mantarlardan *Candida albicans* maya mantarı kullanılmıştır.

Familiya	Tür	Temin edildiği yer
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı
Cryptococcaceae	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Çizelge 3.2. Deneyde kullanılan mikroorganizmalar.

3.1.2.1. *Escherichia coli*

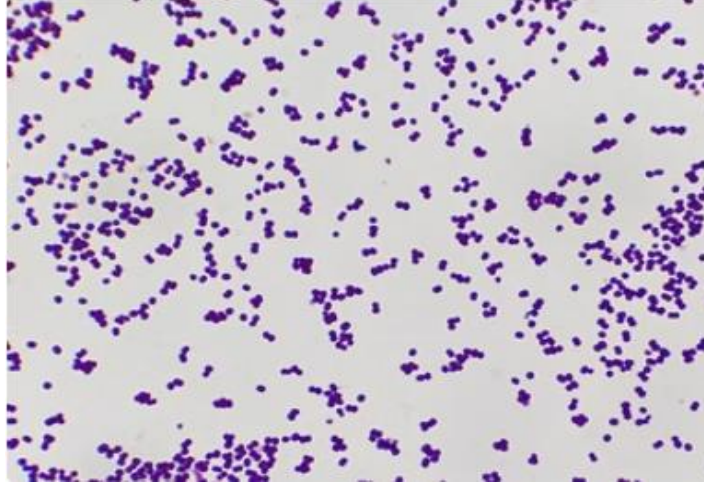
Escherichia coli, Enterobacteriaceae familyasına ait, *Escherichia* cinsi bakterilerdir. *E. coli*, gram negatif bir bakteridir ve 1,1-1,5 x 2,0-6,0 µm boyutlarında, çoğunlukla hareketli, sporsuzdur ve anaerobik bakterilerdir. Eni boyundan kısa olduğu için şekilleri çomağa (basil) benzer. Koli basili olarak ta bilinir. Bağırsak içindeki diğer mikroorganizmalarla uyumlu bir flora oluşturur. Canlının bağışıklığı düştüğünde, *E. coli* dolaşıma girerek enfeksiyona neden olabilir. Neden olduğu hastalıklar; üriner sistem, safra yolları enfeksiyonu, ishal, menenjit, peritonit, abse, sinüzit, yara ve benzeri enfeksiyonlardır (Allocati vd., 2013). *E. coli*' nin mikroskop altında çekilmiş görüntüsü şekil 3.10.' da verilmiştir.



Şekil 3.10. *Escherichia coli* türünün mikroskop altındaki görüntüsü.
(<http://mikrobiologie.lf3.cuni.cz/rep/graphics/esco.jpg>)

3.1.2.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus, Staphylococcaceae familyasına ait, *Staphylococcus* cinsi bakterilerdir. *S. aureus* gram-pozitif bir bakteridir ve 0.5-1.5 µm çapında, küre şekilli (kok), sporsuz ve kapsülsüz, fakültatif (ortam koşullarına dayanıklı), anaerobik bakterilerdir. Bu bakteri, insanların deri ve mukoz membranlarında yaygın olarak bulunur. İnsan ve hayvanların derilerinde, yüzlerinde, ellerde ve kollarında, özellikle apseli yaralarda, sivilcelerde ve çıbanlarda yaygındır. Vücut dışında yaşayabilen tek insan patojenidir. İnsanlarda beyin zarının iltihaplanmasına (menenjit), kan zehirlenmesine (septisemi), eklemlerin iltihaplanmasına, süt veren hayvanlarda mastisite ve gıda zehirlenmesine neden olur (Gnanasuntharam, 2013). *S. aureus*' un mikroskop altında çekilmiş görüntüsü şekil 3.11.' de verilmiştir.

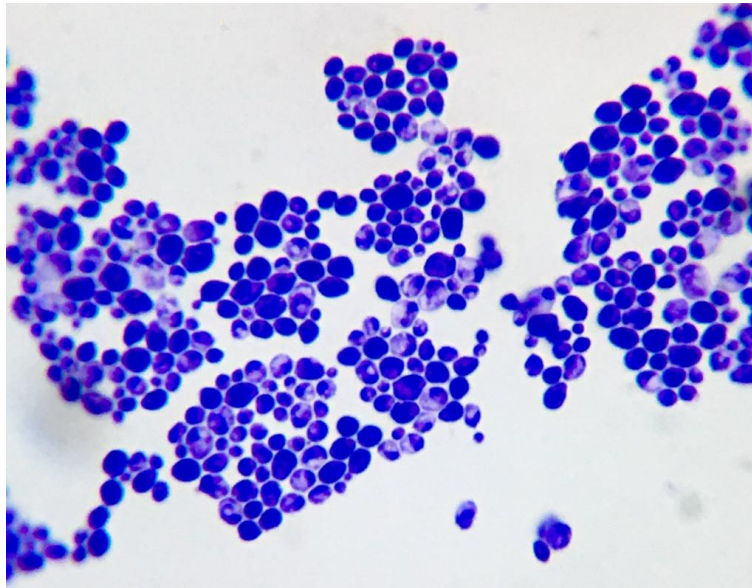


Şekil 3.11. *Staphylococcus aureus* türünün mikroskop altındaki görüntüsü.

(<https://www.shutterstock.com/tr/image-photo/staphylococcus-aureus-bacteria-microscopic-image-2085825139>)

3.1.2.3. *Candida albicans*

Candida albicans, Cryptococcaceae familyasına ait bir türdür. Konağa bulaşmadan önce maya fazında; şekli ovoid ve iki kutbundan çıkıntılıdır. *C. albicans* mantarı, ağız mukozasına ve plastik yüzeylere iyi yapışır. Çok sayıda kandida ağız, bağırsak, vajina, üst solunum yolu ve deri floralarında bulunur. Fırsatçı patojendir. Bağışıklık sistemi düştüğünde yüzeysel ve derin mikozlara neden olabilir. Bu mikroorganizmayı izole etmek kolaydır. Antifungal içermeyen her besiyerinde ürerler. Mısır unlu agar, patatesli nişastalı dekstroz agar ve Sabouraud agarda ürerler (Georg vd., 1954). *C. albicans*' ın mikroskop altında çekilmiş görüntüsü şekil 3.12.' de verilmiştir.



Şekil 3.12. *Candida albicans* türünün mikroskop altındaki görüntüsü.

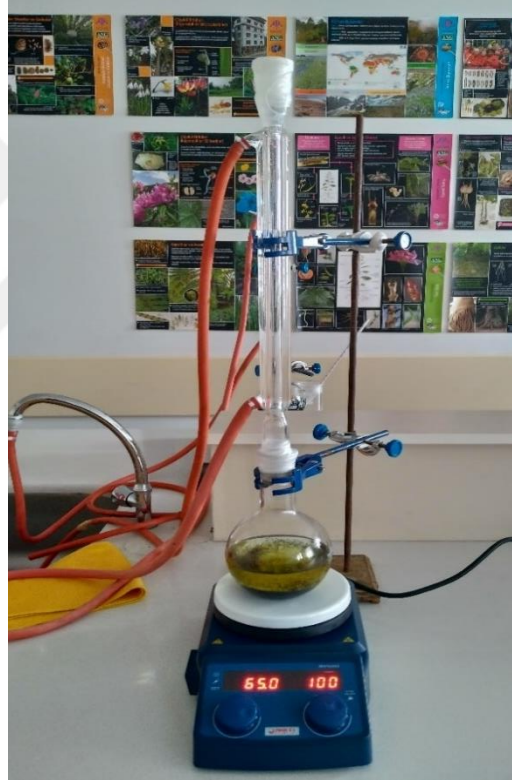
(<https://www.ihappysci.com/product/candida-albicans-smear/>)

3.1.3. Deneyde Kullanılan Çözücüler

Karayosunlarının aktif bileşenlerinin ekstraksiyonu için numunelere Soxhlet ekstraksiyonu uygulandı. Bu amaçla çözücü olarak analitik saflıkta metil alkol, etil alkol, kloroform ve aseton kullanılmıştır.

3.1.4. Soxhlet Cihazı Ve Döner Buharlaştırıcı

Öğütülerek toz hale getirilen örneklerin ekstraksiyonu için kullanılan soxhlet cihazının ve çözücülerin vakumda buharlaştırılıp ekstraktların deriştirilmesi için kullanılan döner buharlaştırıcının (rotary evaporatör) görselleri Şekil 3.13. ve Şekil 3.18.(a)' de verilmiştir.



Şekil 3.13. Soxhlet cihazının genel görünümü.

3.1.5. Deneyde Kullanılan Besiyeri

Üremesi istenilen bakteri ve mantarlar için uygun besi yeri hazırlanmalıdır.

Gram pozitif ve gram negatif bakterileri için disk difüzyonda Mueller Hinton Agar (MHA), MİK' de ise Mueller Hinton Broth kullanılmıştır.

Mueller Hinton Agar besiyeri, genel kullanım tarifine göre hazırlanmıştır; distile su için litre başına 34 g olacak şekilde karışım hazırlanarak ısıtılmış ve eriyik vaziyette

otoklavda 115 °C’de 10 dakika sterilize edilip, steril petri kaplarına ölçülü şekilde dökülmüştür.

Mueller Hinton Broth sıvı besiyeri; 1 lt distile suya 21 g madde eklenir, ısıtılarak erimesi beklenir. Otoklavda 121 °C 15 dk boyunca steril edilir (Silici & Koç, 2006).

Candida albicans için disk difüzyonda Sabouraud dekstroza agar (SDA), MİK’ de ise Sabouraud dekstroza broth (SDB) kullanılmıştır. Sabouraud dekstroza agar besiyerinde; dH₂O için litre başına 47 g olacak şekilde karışım hazırlanarak ısıtılmış ve eriyik vaziyette otoklavda 121 °C’da 15 dakika sterilize edilip, steril petri kaplarına ölçülü şekilde dökülmüştür. (Georg vd., 1954).

3.1.6. Diskler

Karayosunu ekstratlarını emdirmek için Bioanalyse marka boş diskler kullanılmıştır.



Şekil 3.14. Steril antimikrobiyal boş disk

<https://bioanalyse.com/bioanalyse-antimikrobiyal-duyarlilik-testi-diskleri>

3.2. Metot

3.2.1. Karayosunlarının Teşhisi

Ankara’ nın kuzeybatı ilçelerinden (Beypazarı, Güdül, Nallıhan) şimdiye kadar antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri araştırılmamış karayosunu örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler, Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Polatlı Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümü karayosunu herbaryumunda kurumaya bırakılmış ve teşhis için uygun hale getirilmiştir. Teşhisi yapılacak örnekler öncelikle, steril petri kabında su ile ıslatılıp, Olympus SZX7 trioküler stereo mikroskop altında diseksiyon

pensleriyle, bitki türünün karakterleri (yaprak, yaprak enine kesit, stomalar, kapsül dişleri ve sporları vb.) göz önünde bulundurularak preparasyonu yapılmıştır.

Preparatlar Olympus BX43 trioküler ışık mikroskopunda incelenmiştir. İncelenen örneklerin genel görüntüleri, Olympus SZX7 trioküler stereo mikroskoba bağlı bilgisayar bağlantılı Olympus SC 100 kamera sistemi ile fotoğraflanmıştır. Elde henüz yazılı bir Türkiye Karayosunu Florası olmadığından, preparasyonu yapılan örneklerin teşhisinde, öncelikle İngiltere-İrlanda florası (Smith, 2004) ve diğer Avrupa ülkelerine ait floralar (Nyholm, 1986, 1989, 1993, 1998; Pedrotti 2001,2006; Hedenäs 1992; Brugués vd., 2007; Casas vd., 2009; Guerra vd., 2006, Frey vd., 1995) kullanılmıştır. Bu floraların yanı sıra elde revizyon ve monografları bulunan Pottiaceae familyası (Zander 1993), *Racomitrium* (Bednarek-Ochyra 1995), *Grimmia* Hedw. (Greven 1995, 2003), *Schistidium apocarpum* kompleksi (Bloom 1996) ve *Orthotrichum* (Lewinsky 1993) grupları için bu kaynaklar öncelikle kullanılmıştır. Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi Biyoloji bölümü Botanik Anabilim dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Güray UYAR tarafından gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Karayosunlarının Ekstraksiyona Hazır Hale Getirilmesi

Araştırmalarımız sonunda deneyde kullanılmasına karar verilen karayosunlarının kaba temizliği (toprağı vb) yapılarak pens yardımıyla tek tek ayıklanmış, ardından distile su ile yıkanarak kurutma kağıdı üzerine serilmiş ve oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.15.).

Kuruyan örnekler el parçalayıcısı (blender) yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz örnekler hassas terazide darası alınmış kilitli poşetlere doldurularak etiketlenmiş ve dolu ağırlıkları tartılmıştır. Karayosunlarının kuru ağırlıkları çizelge 3.3' te belirtilmiştir.



a.



b.



c.

Şekil 3.15. Distile su ile yıkanmış ve kurutulan karayosunları (a, b, c).

Karayosunu	Toz ağırlık (g)
<i>Grimmia montana</i> Bruch & Schimp.	18,79
<i>Brachythecium rivulare</i> Schimp.	4,63
<i>Gymnostomum aeruginosum</i> Sm.	16,14
<i>Hygroamblystegium humile</i> (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs	7,67
<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay	4,42

Çizelge 3.3. Karayosunlarının kuru ağırlıkları.

3.2.3. Ekstraksiyon İşlemi

Bitkilerin içerdiği antimikrobiyal özelliğe sahip etken maddelerin yüksek verimle ekstraksiyonunun hem numune miktarıyla hem de çözücü miktarı ve cinsi ile yakından ilgili olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda Çizelge 2.3 de kuru ağırlıkları verilen Karayosunu örneklerinden en düşük kuru ağırlığa sahip olan *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay (4,42 g) ve *Brachythecium rivulare* Schimp. (4,63 g) bitkilerinin kuru ağırlıkları temel alınarak ortalama 4,0 g örnek 250 ml çözücü ile ekstrakte edilmiştir. Böylece tüm örneklerin aynı çözücü ile ekstraksiyonu ile elde edilen etken maddelerin mikrobiyal etkilerinin sonuçlarının karşılaştırması yapılabilmektedir. *G. montana* (18,79 g) ve *G. aeruginosum* (16.14 g) örneklerinin metil alkolden başka etil alkol, aseton ve kloroform ile ekstraksiyonu yapılmıştır.

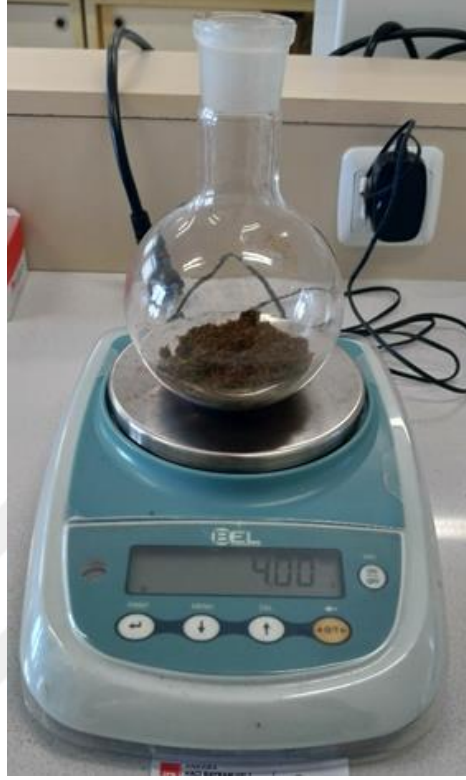
3.2.3.1. Soxhlet cihazı ile ekstraksiyon

500 ml hacimli cam balon içine steril koşullarda, toz haline getirilmiş bitki örneklerinden yaklaşık 4,00 g tartılmış ve 250 ml çözücü ilave edilerek bir gece bekletilmiştir. Numune-çözücü karışımını içeren balon joje, Şekil 2.13’ de verilen soxhlet ekstraksiyon sistemine yerleştirilerek 6 saat süre ile çözücülerin kaynama sıcaklıklarının hemen altında magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak ekstrakte edilmiştir. Çizelge 3.4.’ te karayosunu türlerinin toz örnek miktarları, kullanılan çözücüler ve elde edilen ekstraktın miktarları verilmiştir.

NO	Karayosunu türü	Toz örnek miktarı, g	Çözücü	Ekstrakt miktarı, ml
1.	<i>P.pseudotriquetrum</i>	4,42	Metil alkol	255
2.	<i>B. rivulare</i>	4,44	Metil alkol	236
3.	<i>H. humile</i>	4,53	Metil alkol	256
4.	<i>G. montana</i>	4,17	Metil alkol	258
5.	<i>G. aeruginosum</i>	4,00	Metil alkol	258
6.	<i>G. montana</i>	4,24	Aseton	230
7.	<i>G. montana</i>	4,14	Etil alkol	240
8.	<i>G. montana</i>	4,41	Kloroform	210
9.	<i>G. aeruginosum</i>	4,04	Aseton	230
10.	<i>G. aeruginosum</i>	4,00	Etil alkol	234
11.	<i>G. aeruginosum</i>	4,10	Kloroform	230

Çizelge 3.4. Karayosunu türlerinin örnek miktarları, kullanılan çözücüler ve elde edilen ekstraktların hacimleri.

Ekstraksiyonu tamamlanan örnekler oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra kaba süzgeç kâğıdı yardımıyla ağzı sıkıca kapanan numune kaplarına süzölmüş ve etiketlenerek bir sonraki aşama için buzdolabında (+4 °C) bekletilmiştir.



Şekil 3.16. Darası alınmış bir Soxhlet balonunda tartılan bitki örneği.



a.



b.

Şekil 3.17. Bitki ekstraktlarının süzölmesi ve numune kaplarına alınması (a, b).

3.2.3.2. Döner buharlaştırıcı ile çözücülerin buharlaştırılması ve ekstraktların deriştirilmesi

Metil alkol ve etil alkol ile yapılan ekstraksiyon işlemlerinden sonra elde edilen ekstraktlardan bir mezür yardımıyla ölçülerek 60 ml'lik kısımlar döner buharlaştırıcının balon joesine alınmış ve vakum altında yaklaşık 1,5 – 2,0 ml-ekstrakt kalıncaya kadar çözücülerin buharlaşması sağlanmıştır (Şekil 3.14.). Derişik ekstraktlar, 2 ml'lik endorf tüplere pastör pipet ile alınmış ve çözücülerin daha fazla buharlaşmasını önlemek için tüplerin ağızları parafilm ile sıkıca kapatılarak etiketlenmiştir (Şekil 3.19.). Hazırlanan ekstraktlar çalışmanın diğer aşamasında kullanılmak üzere buzdolabına (+4 °C) kaldırılmıştır.

Kloroform ve aseton çözücülerini kaynama noktalarının çok düşük olması nedeniyle oda koşullarında hızla buharlaşabilmektedir. Bu nedenle kloroform ve asetonla elde edilen ekstraktlardan alınan 60'ar ml'lik kısımlar çeker ocak içerisinde bir gece bekletilerek çözücülerin yaklaşık 1,5 – 2,0 ml hacme kadar buharlaşması sağlanmış ve etiketlenerek endorf tüplere aktarılmıştır.



a.

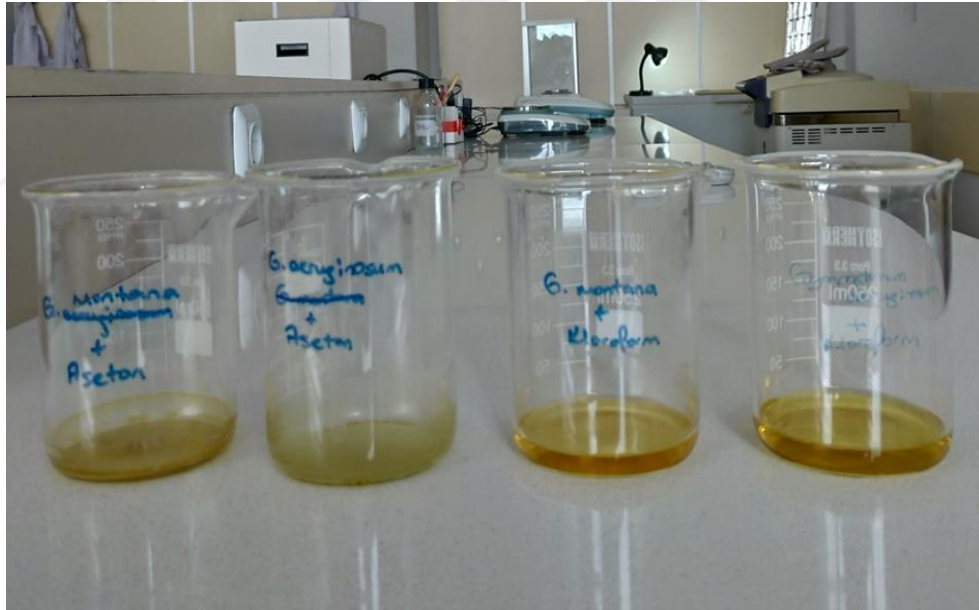


b.

Şekil 3.18. Ekstraktların döner buharlaştırıcıda (Rotary evaporatör) çözücüsünün uzaklaştırılması (a, b).



Şekil 3.19. Ependorf tüpe alınmış derişik ekstrakt.



Şekil 3.20. Asetonlu ve kloroformlu ekstraktların laboratuvar koşullarında çözücülerinin buharlaşması

3.2.4. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Ekstraktları elde edilen 5 karayosunu türünün antimikrobiyal aktivitesini tespit etmek için Disk difüzyon, Agar well difüzyon yöntemi ve Minimum inhibisyon konsantrasyonu yöntemi (MİK) kullanılmıştır.

3.2.4.1. Disk difüzyon ve agar well yöntemi süreci

3.2.4.1.1. Besiyeri hazırlığı

Escherichia coli ve *Staphylococcus aureus* bakterileri için disk difüzyon ve agar well yönteminde kullanılmak üzere MHA, *Candida albicans* için SDA katı besiyeri, minimum inhibisyon konsantrasyonuna bakmak için *E. coli* ve *S. aureus* için Mueller Hinton Broth, *C. albicans* için ise Sabouraud dextroz broth sıvı besiyeri ‘3.1.5 Deneyde kullanılan besi yeri’ başlığı altındaki tarife uygun hazırlanmıştır. Hazırlanan MHA ve SDA besi yerleri 90 mm ve 150 mm çapındaki steril petri kutularına ortalama 5 mm derinlik olacak şekilde dökülmüştür.

3.2.4.1.2. Mikroorganizmaların mcfarland standardizasyonu

Antimikrobiyal testleri standart hale getirmek için bakteri sayısının belirli bir aralıkta olmasını sağlar. Baryum klorür ve sülfürik asidin kimyasal tepkimesi sonucu oluşan baryum sülfat çökeltisinin neden olduğu bulanıklık McFarland standardını ortaya çıkarır. Böylece McFarland Standardının bulanıklığı bir bakteri süspansiyonu ile karşılaştırılabilir. Bu iki kimyasal reaktifin hacmini değiştirerek hücre sayısını gösteren McFarland standartları oluşturulabilir. 0,5 McFarland standardı bulanıklığına göre hazırlanmış bir test tüpünde 1×10^7 ve 1×10^8 cfu/mL arasında canlı hücre sayısı bulunmaktadır (Senol vd., 2007).

Bu tez çalışmasında hazırlanan mikroorganizma süspansiyonu, 0,5 McFarland bulanıklığıyla karşılaştırılarak standardize edilmiştir.

3.2.4.1.3. Mikroorganizma inokülasyonu

Disk difüzyon uygulaması ve Agar well difüzyon için hazırlanan besi yerlerine test tüpünden eküvyon yardımıyla alınan mikroorganizmalar, besiyerinin tamamına dağıtılmıştır.

3.2.4.1.4. Disklerin emdirilmesi ve agar well difüzyon uygulaması

Bu tez çalışmasında disk difüzyon yöntemi ve besiyerine kuyucuk açarak içini doldurmak şeklinde agar well yöntemi uygulanmıştır. Her bir steril boş diske mikro pipet yardımıyla 20 µl saf ekstat emdirilip, Silici ve Koç (2006) tarafından yapılan çalışmada belirtildiği gibi gece boyunca çözücüsünün uçmasını beklenmiştir ve besiyerine yerleştirilmiştir.

Agar well difüzyon için besiyerlerine steril pipet ucu ile kuyucuk açılmıştır. Açılan kuyucuklara mikro pipet yardımıyla 60 µl kadar saf ekstrakt eklenmiştir. Bu uygulamalar neticesinde mikroorganizma etkinliğini gözlemlemek için petri kapları 18-24 saat 37 °C ' de etüve kaldırılmıştır.

3.2.4.1.5. Disklerin yerleştirilmesi/ kuyucuk açılması

Diskler, etkinliğini gözlemlemek amacıyla belli bir düzene göre yerleştirilmiştir. Buna göre çözücüsü aynı olan ekstraktlı diskler, mikroorganizma çeşidine göre bir petri kabına yerleştirilmiştir.

- 150 mm çapındaki petrilere 7' şer adet disk yerleştirilmiştir. Bunlardan 5 tanesi aynı çözücülü olanlar, 1 tanesi negatif kontrol ve diğer bir tanesi pozitif kontrol için koyulan disklerdir.
- 150 mm çapındaki petrilere 7' şer adet kuyucuk açılmıştır. Bunlardan 5 tanesi aynı çözücülü olanlar, 1 tanesi negatif kontrol ve diğer bir tanesi pozitif kontrol için açılan kuyucuklardır.
- 90 mm çapındaki petrilere 4' er adet disk yerleştirilmiştir. Bunlardan 2 tanesi çözücüsü aynı olanlar, 1 tanesi negatif kontrol ve diğer bir tanesi pozitif kontrol için koyulan disklerdir.
- 90 mm çapındaki petrilere 4' er adet kuyucuk açılmıştır. Bunlardan 2 tanesi çözücüsü aynı olanlar, 1 tanesi negatif kontrol ve diğer bir tanesi pozitif kontrol için açılan kuyucuklardır.

3.2.4.2. İnkübasyon

Disk yerleştirme ve kuyucuk doldurma işlemi bitmiş petrilere, etüvde 18-24 saat 37 °C' de inkübe edilmiştir.

3.2.4.3. İnhibisyon zonlarının ölçülmesi

24 saatlik inkübasyonun ardından disklerin ve kuyucukların çevresindeki inhibisyon zonları cetvel kullanılarak ölçülmüştür. Milimetre cinsinden not edilmiştir.

3.2.4.4. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) uygulaması

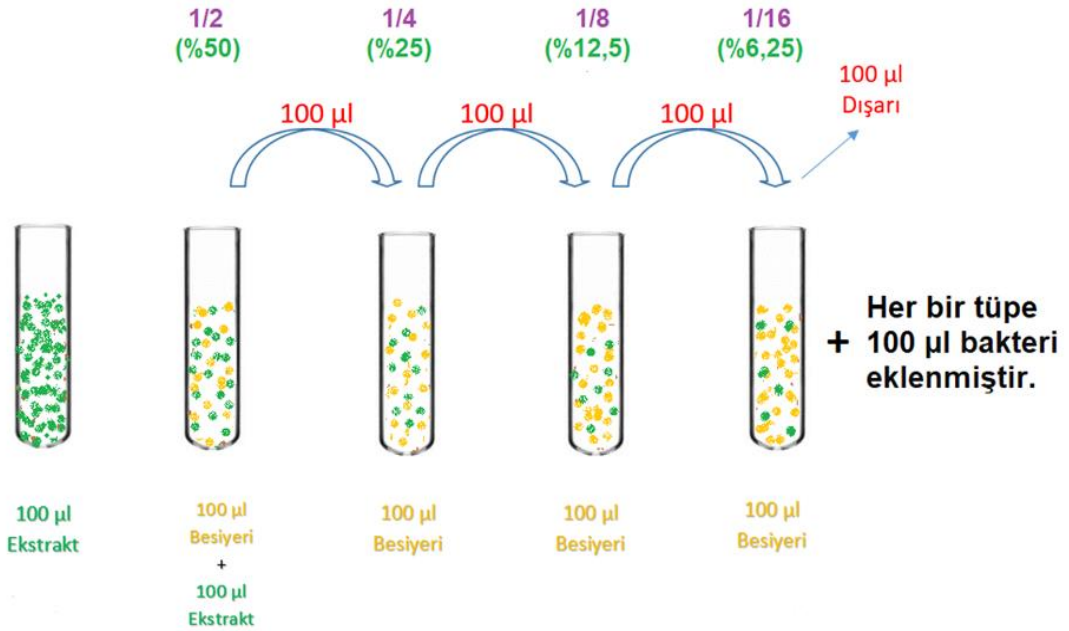
Mikroorganizmaların büyümesini durduran en düşük konsantrasyon, MİK değeridir. Sıvı dilüsyon metodu kullanılarak mikrodilüsyon şeklinde MİK uygulanmıştır. Bu tez çalışmasında her bir örnek için MİK değerine bakılmıştır.

MİK için kullanılan doz, eldeki ekstrakt miktarına göre belirlenmiştir. Uygulanış aşamaları aşağıdaki gibidir;

- Steril mikropalakaları arada iki kuyucuk kalacak şekilde ikiye bölerek çok sayıda örneği bir arada görmek hedeflenmiştir. Her bir karayosunu türü için 5 kuyucuk ayrılmıştır (çizelge 3.5.).
- İlk kuyucuğa 100 µl kadar sadece ekstrakt konulmuştur. Amaç ise tek başına antimikrobiyal etkisini gözlemlemektir.
- Sonraki dört kuyucuğa 100' er µl sıvı besiyeri eklenmiştir.
- Sadece ikinci kuyucuğa sıvı besiyerine ilave 100 µl ekstrakt eklenmiştir.
- İkinci kuyucuktan itibaren mikro pipet yardımıyla dilüsyon yapılmıştır. En son 5. kuyucuktan 100 µl kadar dışarı atılmıştır.
- Bu aşamaların sonunda 2.kuyucukta %50, 3. kuyucukta %25, 4. kuyucukta %12,5, 5. Kuyucukta %6,25, ekstrakt konsantrasyonları elde edilmiştir (şekil 3.21.).
- Her kuyucuğa bakteri/maya mantarı süspansiyonundan mikro pipetle 100 µl ilave edilmiştir.
- Mikroorganizma üreme etkinliğini gözlemlemek için 18-24 saat kadar 37 °C' de etüvde beklemiştir.
- İnkübasyondan sonra üremenin olmadığı/en az olduğu kuyucuklar belirlenip not edilmiştir. Ayrıca bu kuyucuklardan mikropipet yardımıyla mikroorganizma alınarak besiyerlerine ekim yapılmıştır ve MBK etkisi gözlenmiştir.
- İnkübasyonun bitiminde üremenin başladığı tüp belirlenerek, karayosunu ekstraktlarının minimum inhibisyon değerleri (µl/ml) cinsinden hesap edilmiştir.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
<i>G. aeruginosum</i>													<i>B. rivulare</i>
A													
B													<i>P. pseudotriquetrum</i>
C													
D													<i>H. humile</i>
<i>G. montana</i>													Metanol
E													Kontrol grubu
F													
G													
H													
													Etanol
													Aseton
													Kloroform

Çizelge 3.5. MİK uygulaması için mikropılaka üzerinde yapılan adlandırmaların temsili çizimidir.



Şekil 3.21. MİK için şematize seyreltme metodu (100 µl= 0.1 ml). 2.tüpten itibaren tüplerde kalan ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml) cinsinden hesap edilmiştir. Ekstraktı seyreltme sonucunda 2.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 50 µl ekstrakt, 3. tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 25 µl, 4. Tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 12,5 µl, 5.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 6.25 µl ekstrakt bulunmaktadır.

3.2.4.5. Negatif kontrol

Deneyin negatif kontrolü için karayosunu türlerinin kendi çözücülerini olarak metanol, etanol, kloroform, aseton ve saf su kullanılmıştır.

3.2.4.6. Pozitif kontrol

Deneyin pozitif kontrolünde antibiyotik olarak *E.coli* ve *S.aureus* için eritromisin , *C. albicans* için ise flukanozol antibiyotik diskleri kullanılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp., Ekstraktlarının *E. coli* Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri

Deneyde kullanılan karayosunlarının farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının *Escherichia coli* ATCC 35218 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkileri çizelge 4.1. ve 4.2.' de detaylı gösterilmiştir.

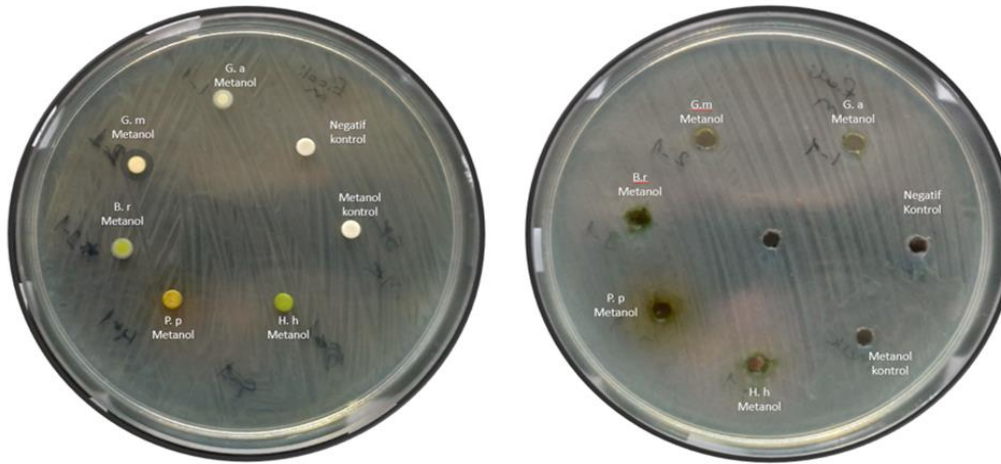
		Metanol	Etanol	Aseton	Kloroform
<i>Gymnostomum aeruginosum</i>	DDY	7 mm	9 mm	-	-
	Agar well	-	11 mm	12 mm	11 mm
<i>Grimmia montana</i>	DDY	12 mm	9 mm	-	-
	Agar well	8 mm	14 mm	9 mm	14 mm
<i>Brachythecium rivulare</i>	DDY	7 mm	X	X	X
	Agar well	7 mm	X	X	X
<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i>	DDY	-	X	X	X
	Agar well	-	X	X	X
<i>Hygroamblystegium humile</i>	DDY	-	X	X	X
	Agar well	7 mm	X	X	X

Çizelge 4.1. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *E. coli* üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.

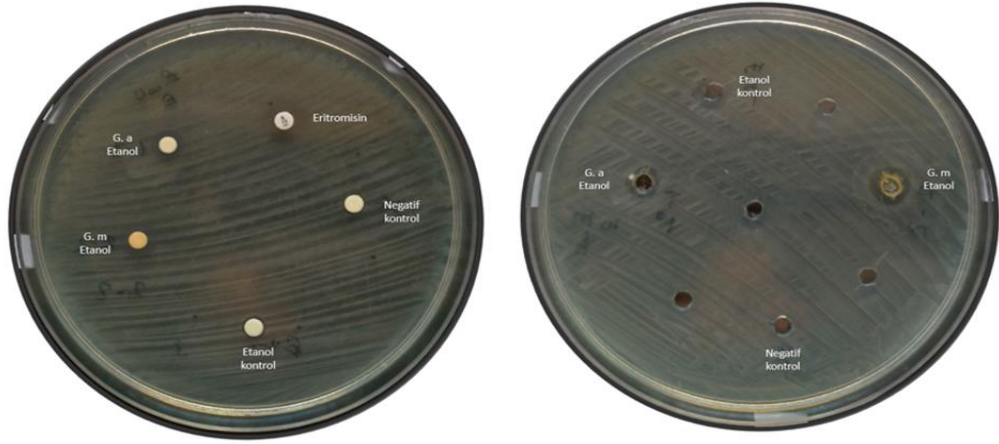
DDY ve Agar Well yöntemi sonucunda *Escherichia coli* ATCC 35218 suşu üzerinde inhibisyon zonu ölçümleri;

- G. aeruginosum* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında 7 mm çapında zon ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise hiçbir etkinlik görülmemiştir. Aynı karayosunun etanollü çözeltisi DD yönteminde 9 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 11 mm zon çapı ölçülmüştür. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken Agar Well yönteminde ise 12 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DDY ile hiçbir etki gözlenmemiştir. Ancak agar well yönteminde 11 mm çap meydana gelmiştir.

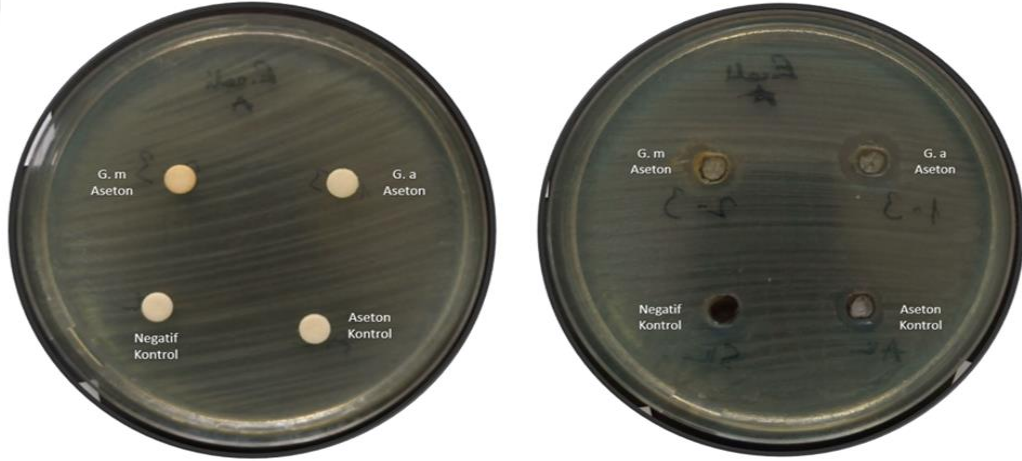
- *G. montana* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında 12 mm çapında zon ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 8 mm' lik çap ölçülmüştür. Aynı karayosunun etanollü çözeltisi DD yönteminde 9 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 14 mm zon çapı ölçülmüştür. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken Agar Well yönteminde ise 9 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DDY ile hiçbir etki gözlenememiştir. Ancak Agar Well yönteminde 14 mm çap meydana gelmiştir.
- *B. rivulare* türünün metanollü çözeltisi DD yönteminde de Agar well yönteminde de 7 mm çapında zon ölçülmüştür.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metanollü çözeltisi DD yönteminde de Agar well yönteminde de hiçbir etki görülmemiştir.
- *H. humile* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemiyle bakıldığında hiçbir etki gözlenmezken agar well yönteminde ise 7 mm çapında zon ölçülmüştür.



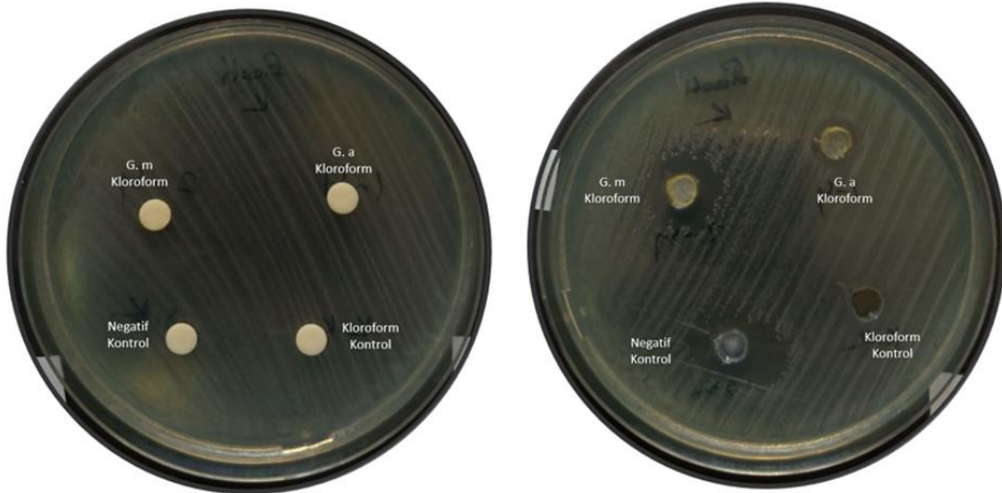
Şekil 4.1. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının *Escherichia coli* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*, B.r: *Brachythecium rivulare*, P.p: *Ptychostomum pseudotriquetrum*, H.h: *Hygroamblystegium humile*.



Şekil 4.2. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının *Escherichia coli* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*, Eritromisin: Antibiyotik.



Şekil 4.3. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının *Escherichia coli* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.



Şekil 4.4. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının *Escherichia coli* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.

Ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml)		50	25	12,5	6,25									50	25	12,5	6,25		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12						
G. aeruginosum	A	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+			B. rivulare			
	B	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+			P. pseudotriquetrum			
	C	-	+	+	+	+			-	-	+	+	+			H. humile			
	D	-	-	-	+	+													
G. montana	E	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+			Metanol			
	F	-	-	-	+	+			-	-	+	+	+			Etanol			
	G	-	-	+	+	+			-	+	+	+	+			Aseton			
	H	-	-	-	+	+			-	-	-	-	+			Kloroform			

Çizelge 4.2. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *E. coli* için MİK değerleri . A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlemek için doldurulan kuyucuklardır. 2.tüpten itibaren tüplerde kalan ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml) cinsinden hesap edilmiştir. Ekstraktı seyreltme sonucunda 2.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 50 µl ekstrakt, 3. tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 25 µl, 4. Tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 12,5 µl, 5.tüpte; 0,1 ml besiyeri içinde 6.25 µl ekstrakt bulunmaktadır.

- *G. aeruginosum* türünün metanollü ve etanollü ekstraktları, *Escherichia coli* ATCC 35218 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimi inhibe etmiştir. Aynı türün asetonlu ekstraktı, 50 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir. Kloroformlu ekstraktında 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimi inhibe etmiştir.
- *G. montana* türünün metanollü ve asetonlu ekstraktları *Escherichia coli* ATCC 35218 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir. Aynı türün etanollü ve kloroformlu ekstraktlarında 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir.
- *B. rivulare* türünün metanollü ekstraktında *Escherichia coli* ATCC 35218 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metanollü ekstraktında *Escherichia coli* ATCC 35218 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *H. humile* türünün metanollü ekstraktında *Escherichia coli* ATCC 35218 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.

4.2 *Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp. Ekstraktlarının *S. aureus* Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri

Deneyde kullanılan karayosunlarının farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkileri çizelge 4.3. ve 4.4.' te detaylı olarak gösterilmiştir.

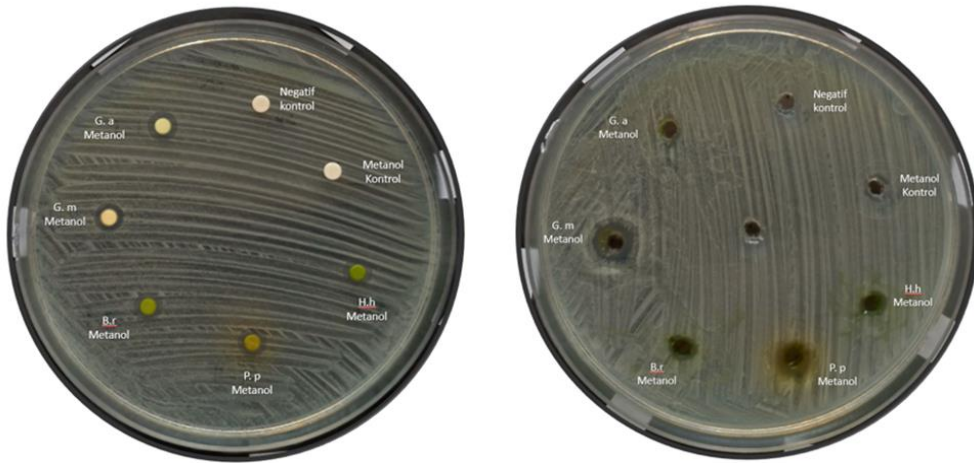
		Metanol	Etanol	Aseton	Kloroform
<i>Gymnostomum aeruginosum</i>	DDY	11 mm	7 mm	-	7 mm
	Agar well	7 mm	14 mm	11 mm	12 mm
<i>Grimmia montana</i>	DDY	11 mm	10 mm	-	7 mm
	Agar well	13 mm	10 mm	9 mm	13 mm
<i>Brachythecium rivulare</i>	DDY	8 mm	X	X	X
	Agar well	8 mm	X	X	X
<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i>	DDY	8 mm	X	X	X
	Agar well	7 mm	X	X	X
<i>Hygroamblystegium humile</i>	DDY	9 mm	X	X	X
	Agar well	7 mm	X	X	X

Çizelge 4.3. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *S. aureus* üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.

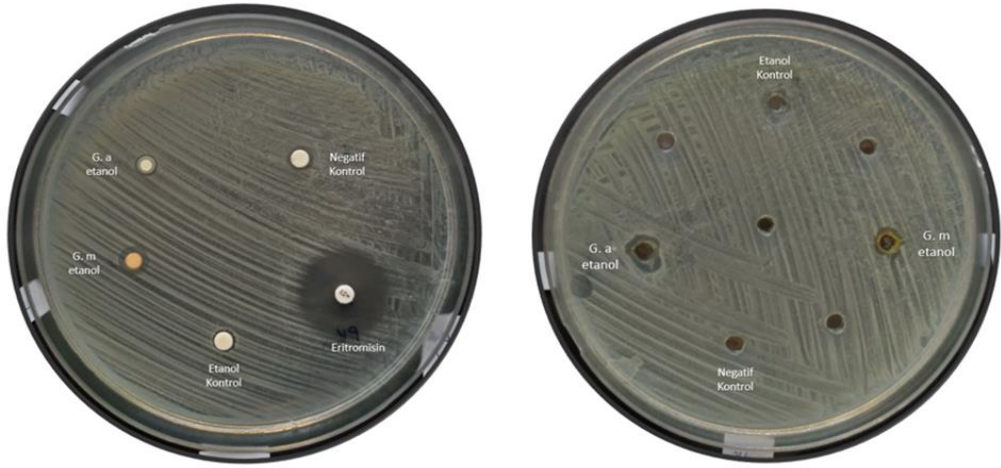
DDY ve agar well yöntemi sonucunda *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu üzerinde inhibisyon zonu ölçümleri;

- *G. aeruginosum* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında 11 mm çapında zon ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 7 mm zon çapı ölçülmüştür. Aynı karayosunun etanollü çözeltisi DD yönteminde 7 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 14 mm zon çapı ölçülmüştür. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken agar well yönteminde ise 11 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DD yönteminde 7 mm zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 12 mm çap meydana gelmiştir.

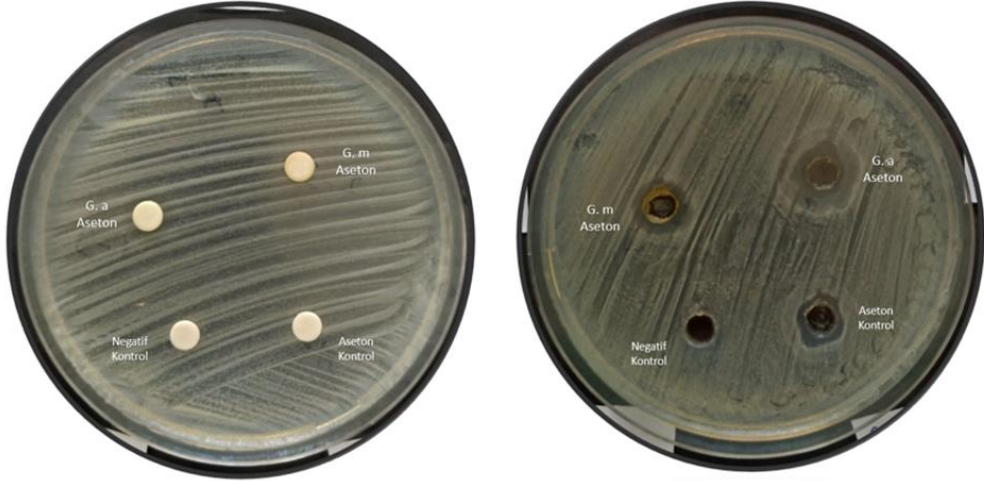
- *G. montana* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında 11 mm çapında zon ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 13 mm' lik çap ölçülmüştür. Aynı karayosununun etanollü çözeltisi hem DDY' de hem de agar well yönteminde 10 mm' lik zon çapı gözlenmiştir. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken Agar Well yönteminde ise 9 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DD yönteminde 7 mm zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 13 mm çap meydana gelmiştir.
- *B. rivulare* türünün metanollü çözeltisi DD yönteminde de agar well yönteminde de 8 mm çapında zon ölçülmüştür.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metanollü çözeltisi DD yönteminde 8 mm' lik, agar well yönteminde ise 7 mm çapında zon ölçülmüştür.
- *H. humile* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemiyle bakıldığında 9 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 7 mm çapında zon ölçülmüştür.



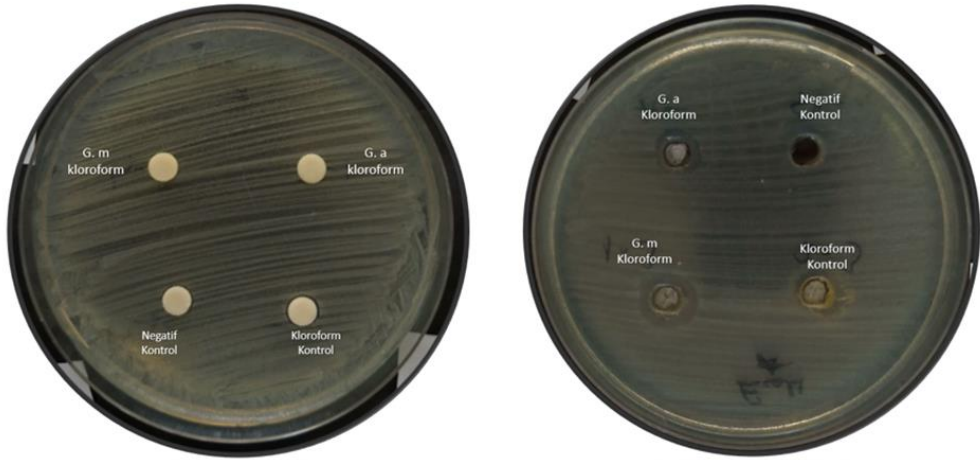
Şekil 4.5. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*, B.r: *Brachythecium rivulare*, P.p: *Ptychostomum pseudotriquetrum*, H.h: *Hygroamblystegium humile*.



Şekil 4.6. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*, Eritromisin: Antibiyotik.



Şekil 4.7. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.



Şekil 4.8. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.

Ekstraktın besiyerine oranı (µl/ml)		50				25				12,5				6,25			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12				
<i>G. aeruginosum</i>	A	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+	<i>B. rivulare</i>			
	B	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+	<i>P. pseudotriquetrum</i>			
	C	-	+	+	+	+			-	-	+	+	+	<i>H. humile</i>			
	D	-	-	-	+	+											
<i>G. montana</i>	E	-	-	+	+	+			-	+	+	+	+	Metanol			
	F	-	-	+	+	+			-	-	+	+	+	Etanol			
	G	-	+	+	+	+			-	+	+	+	+	Aseton			
	H	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	Kloroform			

Çizelge 4.4. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *S. aureus* için MİK değerleri. A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlemek için doldurulan kuyucuklardır.

- *G. aeruginosum* türünün metanollü ve etanollü ekstraktları *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir. Aynı türün Asetonlu ekstraktı, 50 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir. Kloroformlu ekstraktında 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir.
- *G. montana* türünün metanollü ve etanollü ekstraktları *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir. Aynı türün Asetonlu ekstraktı, 50 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir. Kloroformlu ekstraktında 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir.
- *B. rivulare* türünün metanollü ekstraktında *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metanollü ekstraktında *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *H. humile* türünün metanollü ekstraktında *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşunu 25 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.

4.3. *Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp. Ekstraktlarının *C. albicans* Üzerinde Antimikrobiyal Etkisi ve MİK Değerleri

Deneyde kullanılan karayosunlarının farklı çözücülerle elde edilen ekstraktlarının *Candida albicans* ATCC 10231 suşu üzerindeki antimikrobiyal etkileri, çizelge 4.5. ve 4.6. 'da detaylı olarak gösterilmiştir.

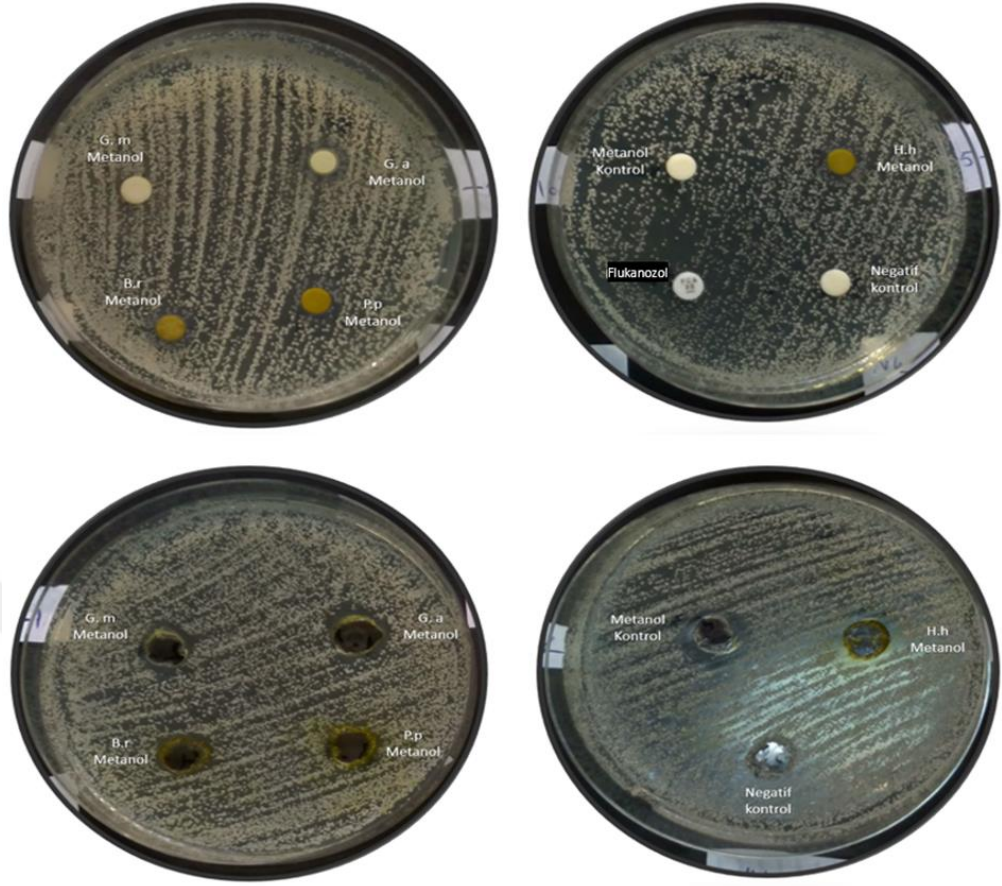
		Metanol	Etanol	Aseton	Kloroform
<i>Gymnostomum aeruginosum</i>	DDY	9 mm	10 mm	-	8 mm
	Agar well	11 mm	9 mm	9 mm	13 mm
<i>Grimmia montana</i>	DDY	-	10 mm	-	7 mm
	Agar well	9 mm	10 mm	9 mm	12 mm
<i>Brachythecium rivulare</i>	DDY	9 mm	X	X	X
	Agar well	-			
<i>Ptychostomum pseudotriquetrum</i>	DDY	8 mm	X	X	X
	Agar well	-			
<i>Hygroamblystegium humile</i>	DDY	9 mm	X	X	X
	Agar well	12 mm			

Çizelge 4.5. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *C. albicans* üzerine uygulanan DDY ve agar well sonuçları.

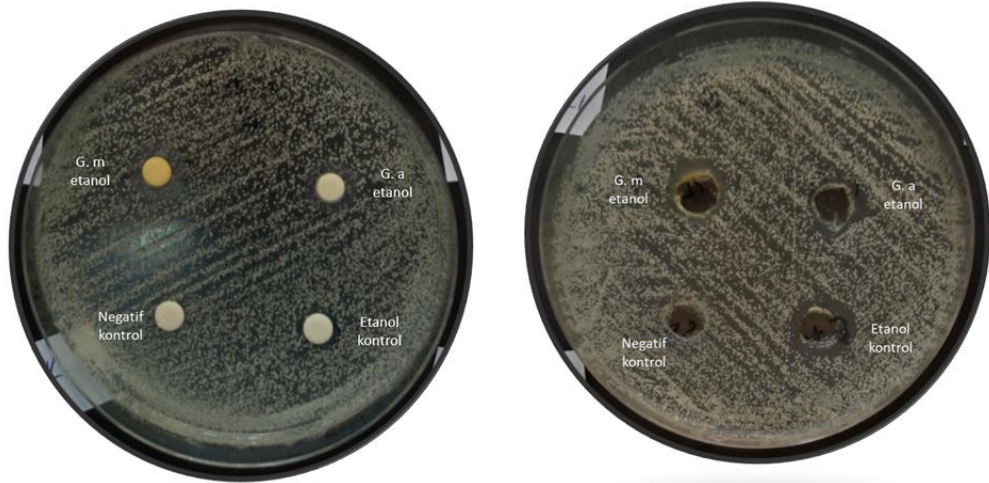
DDY ve Agar Well yöntemi sonucunda *Candida albicans* ATCC 10231 suşu üzerinde inhibisyon zonu ölçümleri;

- *G. aeruginosum* türünün metanollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında 9 mm çapında zon ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 11 mm zon çapı ölçülmüştür. Aynı karayosunun etanollü çözeltisi DD yönteminde 10 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar Well yönteminde ise 9 mm zon çapı ölçülmüştür. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken agar well yönteminde ise 9 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DD yönteminde 8 mm zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 13 mm çap meydana gelmiştir.

- *G. montana* türünün metonollü çözeltisi DD yöntemi ile bakıldığında hiçbir etki gözlenmemiştir. Agar well yönteminde ise 9 mm' lik çap ölçülmüştür. Aynı karayosunuin etanollü çözeltisi hem DDY' de hem de Agar well yönteminde 10 mm' lik zon çapı gözlenmiştir. Asetonlu çözeltisinde DDY ile etkinlik görülmezken Agar Well yönteminde ise 9 mm zon çapı elde edilmiştir. Kloroformlu çözeltisinde DD yönteminde 7 mm zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 12 mm çap meydana gelmiştir.
- *B. rivulare* türünün metonollü çözeltisi DD yönteminde 9 mm' lik zon çapı elde edilmiştir. Agar well yönteminde ise hiçbir etki gözlenmemiştir.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metonollü çözeltisi DD yönteminde 8 mm' lik zon çapı elde edilmiştir. Agar well yönteminde ise hiçbir etki gözlenmemiştir.
- *H. humile* türünün metonollü çözeltisi DD yöntemiyle bakıldığında 9 mm' lik zon çapı ölçülmüştür. Agar well yönteminde ise 12 mm çapında zon ölçülmüştür.



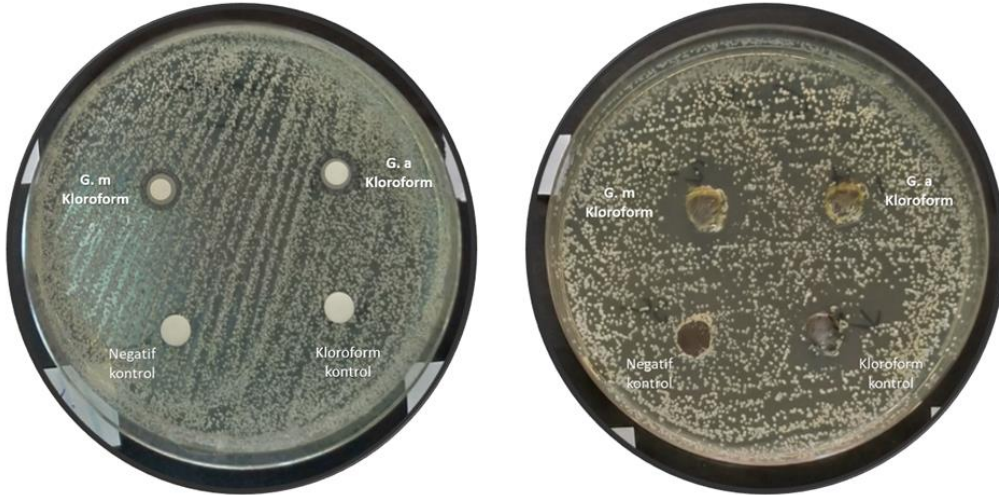
Şekil 4.9. Deneyde kullanılan karayosunlarının metanollü ekstraktlarının *Candida albicans* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*, B.r: *Brachythecium rivulare*, P.p: *Ptychostomum pseudotriquetrum*, H.h: *Hygroamblystegium humile*, Flukanozol: Antibiyotik.



Şekil 4.10. Deneyde kullanılan karayosunlarının etanollü ekstraktlarının *Candida albicans* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.



Şekil 4.11. Deneyde kullanılan karayosunlarının asetonlu ekstraktlarının *Candida albicans* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.



Şekil 4.12. Deneyde kullanılan karayosunlarının kloroformlu ekstraktlarının *Candida albicans* üzerine etkisi. G.a: *Gymnostomum aeruginosum*, G.m: *Grimmia montana*.

Ekstraktın besiyerine		orani (µl/ml)													
		50	25	12,5	6,25					50	25	12,5	6,25		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
<i>G. aeruginosum</i>	A	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	<i>B. rivulare</i>	
	B	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	<i>P. pseudotriquetrum</i>	
	C	-	-	+	+	+			-	-	-	+	+	<i>H. humile</i>	
	D	-	-	-	+	+									
<i>G. montana</i>	E	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	Metanol	Kontrol grubu
	F	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	Etanol	
	G	-	-	+	+	+			-	-	-	+	+	Aseton	
	H	-	-	-	+	+			-	-	-	+	+	Kloroform	

Çizelge 4.6. Deneyde kullanılan karayosunu ekstraktlarının *C. albicans* için MİK değerleri. A ve E: Metanol, B ve F: Etanol, C ve G: Aseton, D ve H: Kloroform. A1 , A8, B1, B8, C1, C8, D1, E1, E8, F1, F8, G1, G8, H1, H8: Saf ekstraktın kendi etkisini gözlemlemek için doldurulan kuyucuklardır.

- *G. aeruginosum* türünün metanollü, etanollü ve kloroformlu ekstraktları *Candida albicans* ATCC 10231 suşunu 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir. Aynı türün Asetonlu ekstraktında ise 25 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir.
- *G. montana* türünün metanollü, etanollü ve kloroformlu ekstraktları *Candida albicans* ATCC 10231 suşunu 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir. Aynı türün Asetonlu ekstraktında ise 25 µl/ml değerinde bakteriyel inhibisyon gözlemlenmiştir.
- *B. rivulare* türünün metanollü ekstraktında *Candida albicans* ATCC 10231 suşunu 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *P. pseudotriquetrum* türünün metanollü ekstraktında *Candida albicans* ATCC 10231 suşunu 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.
- *H. humile* türünün metanollü ekstraktında *Candida albicans* ATCC 10231 suşunu 12,5 µl/ml değerinde bakteriyel gelişimini inhibe etmiştir.

4.4. Negatif kontrol

Negatif kontrol olarak metanol, etanol, kloroform, aseton ve saf su kullanılmıştır. Genel itibariyle disklere emdirilen çözücülerin çok az bir kısmı bakteriler üzerinde etkili olmuştur. Kuyucuklara doldurulan çözücülerin ise çoğu inhibisyon çapı meydana getirmiştir. Ancak oluşan kontrol zon çapları ekstraktların neden olduğu kadar büyük değildir (Çizelge 4.7.).

	E. coli		S. aureus		C. albicans	
	K	D	K	D	K	D
Metanol	-	-	7	-	9	-
Etanol	7	7	7	7	9	-
Aseton	9	-	9	-	9	-
Kloroform	-	-	-	9	12	-
Saf su	-	-	-	8	-	-

Çizelge 4.7. Negatif kontrol değerleri (mm) (-): zon oluşmamıştır. K: kuyucuk, D: disk.

4.5. Pozitif kontrol

Pozitif kontrol bakteriler olarak eritromisin antibiyotik diski kullanılmıştır. Buna göre *E. coli* için 12 mm, *S. aureus* için 29 mm zon ölçülmüştür. *C. albicans* mantar türü için ise flukanozol antibiyotik diski kullanılmıştır fakat etkili olmamıştır.

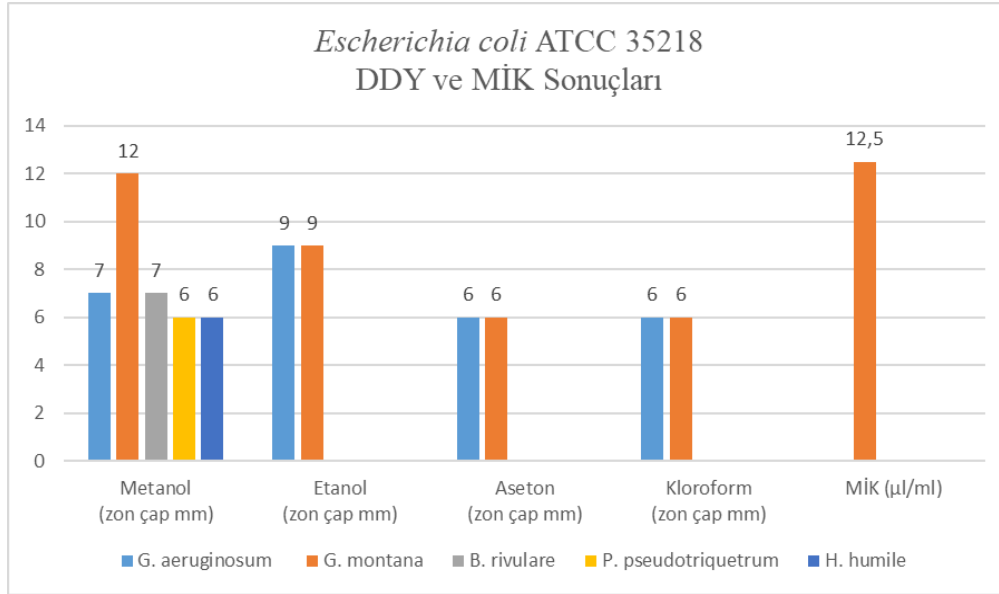
5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada şimdiye kadar antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri çalışılmamış beş karayosunu örneği; *Gymnostomum aeruginosum* Sm., *Grimmia montana* Bruch & Schimp., *Ptychostomum pseudotriquetrum* (Hedw.) J.R.Spence & H.P.Ramsay, *Hygroamblystegium humile* (P.Beauv.) Vanderp. & Hedenäs, *Brachythecium rivulare* Schimp., Ankara'nın kuzeybatı ilçeleri olan Güdül, Beypazarı ve Nallıhan'dan toplanmıştır.

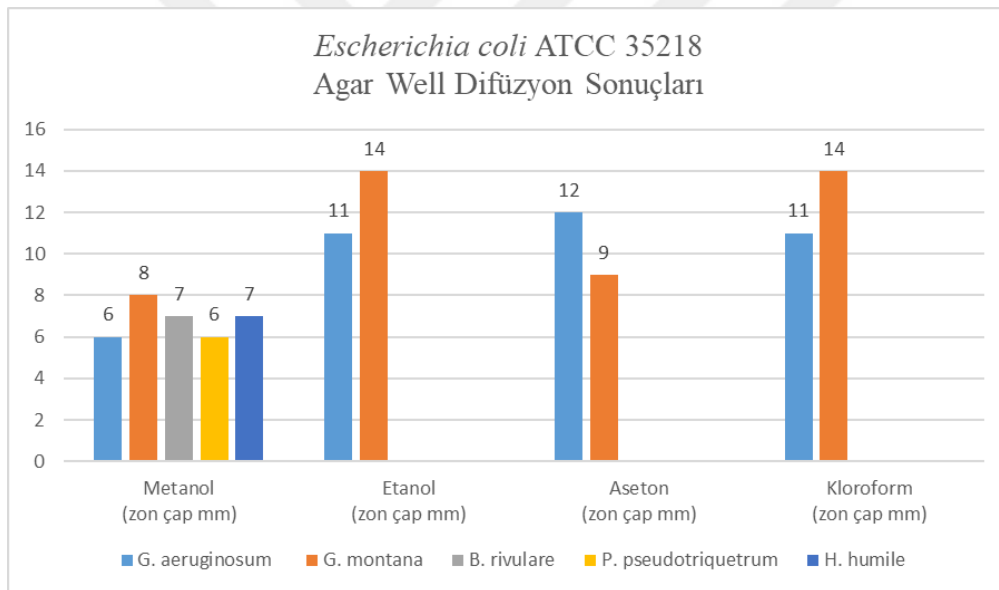
Çalışılan örnekler öncelikle etil alkol, metil alkol, aseton ve kloroform gibi çözücüler kullanılarak soxhlet cihazı ile ekstrakte edilmişler ve sonrasında bu karışım daha saf bir özüt elde etmek amacıyla rotary evaporatör ile vakum altında yaklaşık 1,5 – 2,0 ml ekstrakt kalıncaya kadar çözücülerin buharlaşması sağlanmıştır.

Deneyde kullanılan karayosunlarının antimikrobiyal ve antifungal aktivitesini belirlemek için mikroorganizma olarak gram (-)' leri temsilen *Escherichia coli* ATCC 35218, gram (+)' leri temsilen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve mantarları temsilen *Candida albicans* ATCC 10231 suşları tercih edilmiştir. Antimikrobiyal ve antifungal aktivasyon belirleme işlemi için disk difüzyon ve agar well difüzyon yöntemleri uygulanmıştır.

Bu tez çalışmasında *Escherichia coli* ATCC 35218 suşuna karşı *Grimmia montana* Bruch & Schimp. türünün metanollü ekstraktı, DDY'ne göre 12 mm, aynı türün etanollü ve kloroformlu ekstraktları agar well difüzyon yöntemine göre 14 mm inhibisyon zon çapı ve MİK çalışması sonucunda 12,5 µl/ml konsantrasyon ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. (Çizelge 5.1. ve 5.2.).



Çizelge 5.1. *Escherichia coli* DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)



Çizelge 5.2. *Escherichia coli* agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.).

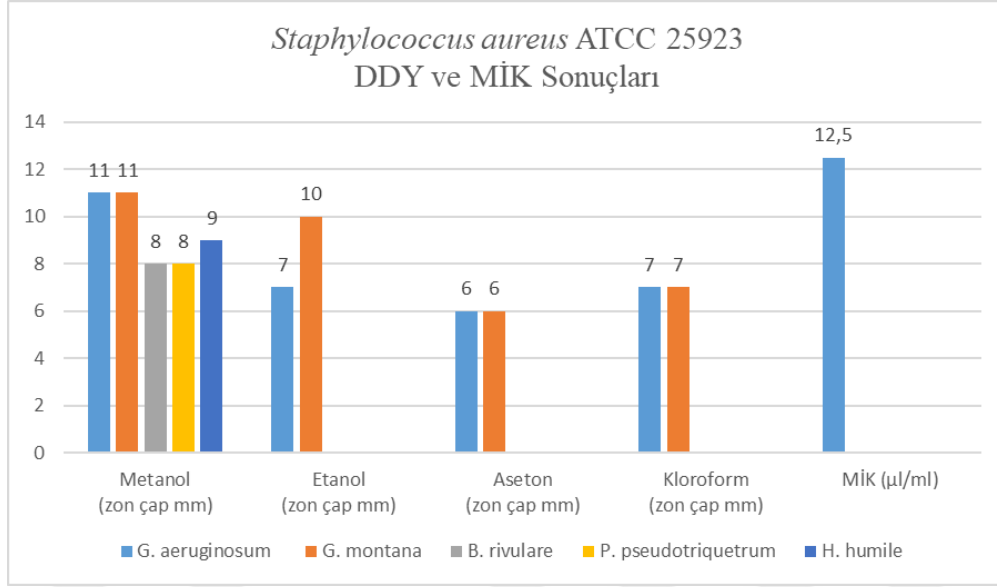
Deneyde kullanılan karayosunlarının *E.coli* ATCC 35218 suşuna karşı metanollü ekstraktlarının etki sıralaması; *G. montana* > *B. rivulare* > *G. aeruginosum* = *H. humile* > *P. pseudotriquetrum* şeklinde iken etanollü ekstraktların etki sıralaması; *G. montana* > *G. aeruginosum*, asetonlu ekstraktların etki sıralaması; *G. aeruginosum* > *G. montana* ve kloroformlu ekstraktların etki sıralaması; *G. montana* > *G. aeruginosum* şeklinde olmuştur. Bu sonuçlara göre *E.coli* ATCC 35218 suşuna karşı en etkili örnek *G. montana* 'nın metanol, etanol ve kloroform ekstraktlarının olduğu görülmüştür.

Ayrıca bu çalışmadan elde edilen verileri, benzer bakteri, çözücüler ve yöntemi kullanan diğer karayosunu antimikrobiyal çalışmalardan elde edilen sonuçlarla kıyaslanacak olursa; *Escherichia coli* ATCC 35218 suşuna karşı *Grimmia montana* ve *Minium marginatum* türlerinin metanollü ekstratlarının benzer antimikrobiyal etki gösterdiklerini ve *Anamodon viticulosus* türüne göre de daha etkili olduklarını söyleyebiliriz. Bu üç karayosunu türünün *E. coli*’ ye karşı inhibisyon zon ölçümleri çizelge 5.3.’ te verilmiştir (Onbaşılı vd., 2011; Çolak vd., 2011).

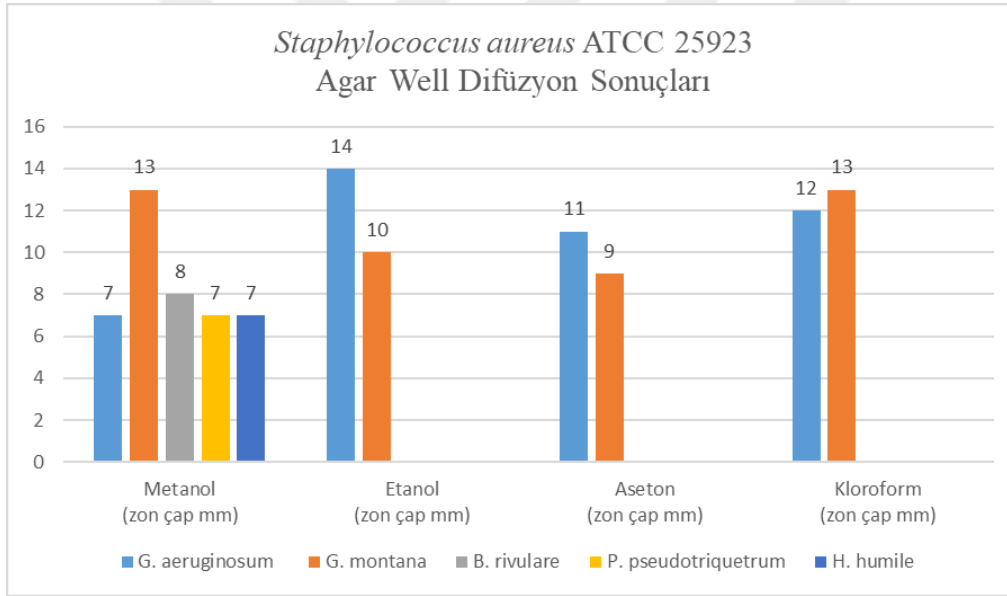
<i>E.coli</i> ATCC 35218	
<i>Mnium marginatum</i> + metanol (Onbaşılı, Altuner, & Yuvalı Çelik, 2011)	12±2 mm
<i>Anamodon viticulosus</i> + metanol (Çolak, Kara, Ezer, Yuvalı Çelik, & Elibol, 2011)	7.8±0.4 mm
<i>Grimmia montana</i> + metanol	12 mm

Çizelge 5.3. *E. coli* üzerinde inhibisyon zon ölçümleri.

Yapılan deneyde *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşuna karşı *Grimmia montana* Bruch & Schimp. ve *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türlerinin metanollü ekstratları, DDY’ne göre 11 mm zon çapı , *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türünün etanollü ekstraktı, agar well difüzyon yöntemine göre 14 mm inhibisyon zon çapı ve MİK çalışması sonucunda 12,5 µl/ml konsantrasyon ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir. (Çizelge 5.4. ve 5.5.).



Çizelge 5.4. *Staphylococcus aureus* DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.).



Çizelge 5.5. *Staphylococcus aureus* agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.).

Deneyde kullanılan metanollü ekstraktlar arasında *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı etki sıralaması ; *G. montana* > *G. aeruginosum* > *B. rivulare* = *H. humile* > *P. pseudotriquetrum* şeklinde iken; etanollü ekstraktların etki sıralaması; *G. aeruginosum* > *G. montana*, asetonlu ekstraktların etki sıralaması; *G. aeruginosum* > *G. montana* ve kloroformlu ekstraktların etki sıralaması; *G. montana* > *G. aeruginosum* şeklinde olmuştur.

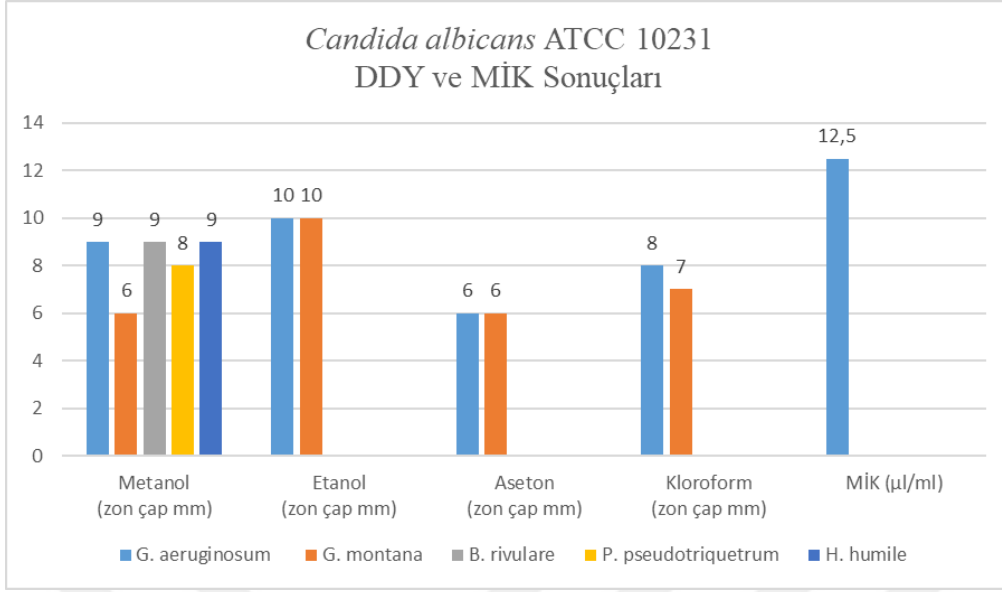
Buna göre *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı en etkili örnek *G. montana*'nın metanol ve kloroform, *G. aeruginosum*'un etanol ve aseton ekstraktlarının olduğu görülmüştür.

Bununla birlikte yine bu çalışmadan elde edilen verileri, benzer bakteri, çözücü ve yöntemi kullanan diğer karayosunu antimikrobiyal çalışmalarından elde edilen sonuçlarla kıyaslırsak; *S. aureus* ATCC 25923 suşuna karşı agar well difüzyon yöntem ile *Pellia epiphylla* ve *Grimmia montana* türlerinin metanollü ekstraktları benzer bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğu; *Hypnum cupressiforme* türüne göre ise daha etkili olduğu görülmüştür. Bu karayosunu türlerinin *S. aureus*'a karşı inhibisyon zon ölçümleri çizelge 5.6.'da verilmiştir (Yıldırım Akatin vd., 2022; Tonguç Yayıntaş vd., 2019).

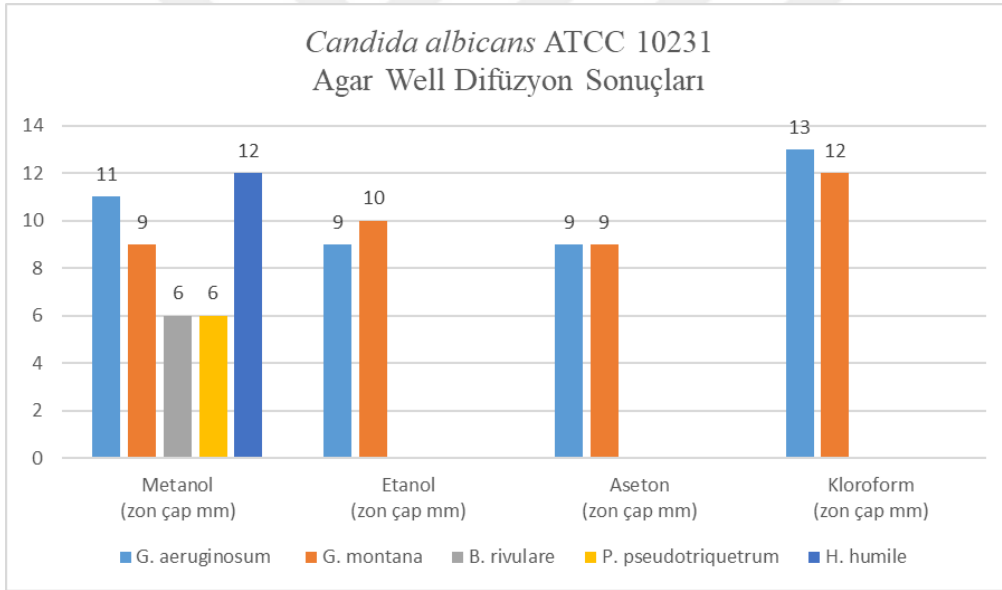
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	
<i>Pellia epiphylla</i> + metanol (Yıldırım Akatin, Er Kemal, & Batan, 2022)	13.45±0.58 mm
<i>Hypnum cupressiforme</i> + metanol (Tonguç Yayıntaş, Yılmaz, & Sökmen, 2019)	-
<i>Grimmia montana</i> + metanol	13 mm

Çizelge 5.6. *S. aureus*'a karşı inhibisyon zon ölçümleri.

Yapılan tez çalışmasında *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı *Grimmia montana* Bruch & Schimp. ve *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türlerinin etanollü ekstraktları DDY'ne göre 10 mm zon çapı, *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türünün kloroformlu ekstraktı agar well difüzyon yöntemine göre 13 mm inhibisyon zon çapı ve MİK çalışması sonucunda 12,5 µl/ml konsantrasyon ile en yüksek antifungal aktiviteyi göstermiştir. (Çizelge 5.7. ve 5.8.).



Çizelge 5.7. *Candida albicans* DDY ve MİK sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)



Çizelge 5.8. *Candida albicans* agar well difüzyon sonuçları. Disk boyutu: 6 mm (Bu durumda inhibisyon zonu oluşmamıştır.)

Deneyde kullanılan karayosunlarının *C. albicans* ATCC 10231 suşuna karşı metanollü ekstraktlarının etki sıralaması ; *H. humile* > *G. aeruginosum* > *G. montana* = *B. rivulare* > *P. pseudotriquetrum* şeklinde iken; etanollü ekstraktlarının etki sıralaması; *G. montana* > *G. aeruginosum*, asetonlu ekstraktlarının etki sıralaması; *G. aeruginosum* = *G. montana* ve kloroformlu ekstraktlarının etki sıralaması; *G. aeruginosum* > *G. montana* şeklindedir.

Buna göre *C. albicans* ATCC 10231 suşuna karşı oluşturduğu çap büyüklüğüne göre en etkili örnek *G. aeruginosum*'un kloroformlu ekstraktı olmuştur. Ardından *H. humile* ' metanollü ekstraktının etkili olduğu görülmüştür.

Yine bu çalışmadan elde edilen verileri, benzer bakteri çözücü ve yöntem kullanan diğer karayosunu antifungal çalışmalarından elde edilen sonuçlarla kıyaslayacak olursak; *Candida albicans* ATCC 10231 suşuna karşı *Grimmia montana* ve *Gymnostomum aeruginosum* türlerinin etanollü ekstraktlarının, *Calliergonella cuspidata*, *Dicranum polysetum* ve *Hypnum cupressiforme* türlerinin etanollü ekstraktlarından daha etkili olduğu görülmüştür. Bu karayosunlarının *C. albicans* ' a karşı inhibisyon zon ölçümleri çizelge 5.9.' da verilmiştir (Altuner vd., 2014).

<i>C. albicans</i> ATCC 10231	
<i>Calliergonella cuspidata</i> <i>Dicranum polysetum</i> + etanol (Altuner, Canlı & Akata, 2014) <i>Hypnum cupressiforme</i>	-
<i>Grimmia montana</i> + etanol <i>Gymnostomum aeruginosum</i>	13 mm

Çizelge 5.9. *C. albicans* ' a karşı inhibisyon zon ölçümleri.

Bu tez çalışmasında elde edilen DD testi ve agar well difüzyon testi sonuçlarına göre, kullanılan beş farklı karayosununun farklı ekstraktlarından etkilenen en duyarlı mikroorganizma, *S. aureus* ATCC 25923 suşu olurken, duyarlılıkta ikinci sırayı *C. albicans* ATCC 10231, üçüncü sırayı da *E.coli* ATCC 35218 almıştır.

Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) uygulaması neticesinde ise üreme olmayan kuyucuklardan, 16 saatlik inkübasyon sonunda, müller hinton agar (MHA) besiyerine ekim yapılarak minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) açısından değerlendirilmiştir ve MİK sonucu ile MBK sonuçları arasında paralellik olduğu da görülmüştür.



6. ÖNERİLER

Ekstraksiyon sırasında çözücünün cinsi ve hacmi, numune/çözücü oranı, sıcaklık, karıştırma hızı, ekstraksiyon süresi gibi değişkenler sonucu etkileyebilmektedir. Bu tez çalışmasında kullandığımız karayosunlarının kuru ağırlıklarının optimizasyon çalışmasını tamamlayabilecek kadar fazla olmaması nedeniyle kapsamlı bir optimizasyon yapılamamıştır. Bu nedenle daha fazla miktarda karayosunu örneği toplayarak ekstrakte edilen etken madde derişimini artırmak ve böylece karayosunlarının antimikrobiyal ve antifungal özelliklerini yorumlamakta daha fazla veri elde etmek mümkündür.

Ancak çalışmamıza konu olan bu beş karayosunu türünün antimikrobiyal ve antifungal özelliklerinin daha önce araştırılmamış olması ve deneysel sonuçların da bu bitkilerin alternatif tedavi için bir aday olarak önerilmesini desteklemesi, çalışmanın özgünlüğünü arttırmaktadır.

Ayrıca ekstraksiyon işleminde kullandığımız soxhlet ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak kapalı sistem mikrodalga ekstraksiyon yöntemi denenebilir. Böylece daha az miktarda numune ve daha az hacimde çözücü kullanarak kısa sürede, daha hızlı ve etkili bir sonuç elde edilebilir. Bununla birlikte bu çalışmanın bize gösterdiği sonuçlara göre çalışılan örneklerden *Grimmia montana* Bruch & Schimp. ve *Gymnostomum aeruginosum* Sm. türlerinin antimikrobiyal ve antifungal aktiviteleri diğer türlere göre daha fazla olduğundan bu türlerin etken maddeleri detaylı analizlerle ortaya çıkarıldıktan sonra ilaç sektöründe kullanılabilecekleri düşünülmüştür.



KAYNAKLAR

- Anand, K., & Langer, A. (2015). *Conocephalum Conicum*-Massive Decline İn Spore-Elater Ratio. *Research İn Plant Sciences*, 3(1), 1-3. <https://doi.org/10.12691/Plant-3-1-1> (Original Work Published 1978)
- Abbasoglu, U. (1996). Antimikrobiyal Aktivite Araştırma Yöntemleri. *Fabad J. Pharm. Sci*, 22, 111-118.
- Adeniyi, B. A., & Odufowora, R. O. (2000). In-Vitro Antimicrobial Properties Of *Aspilla Africana* (Compositae). *African Journal Of Biomedical Research*, 3, 167-170.
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia Coli* İn Europe: An Overview. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 10, 6235-6254.
- Altuner, E. M. (2008). Bazi Karayosunu Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altuner, E. M., Canli, K., & Akata, I. (2014). Antimicrobial Screening Of *Calliergonella Cuspidata*, *Dicranum Polysetum* And *Hypnum Cupressiforme*. *Journal Of Pure And Applied Microbiology*, 8(1), 539-545.
- Bednarek-Ochyra, H. (1995). The Genus *Racomitrium* (Musci, Grimmiaceae) İn Poland: Taxonomy, Ecology And Phytogeography. *Fragmenta Floristica Et Geobotanica Series Polonica*, 2, 1-307.
- Blockeel, T. (2010). *Amblystegium Humile*. In I. Atherton, S. Bosanquet, & M. Lawley (Eds.), *Mosses And Liverworts Of Britain And Ireland A Field Guide* (P. 704). British Bryological Society.
- Brugués M, Cros RM And Guerra J (2007) *Flora Briofítica Ibérica Volume I*, Uniersidad De Murcia, Sociedad Espanola De Briyologia Murcia, ISBN: 978-84-611-8462-0, 183 Pp.
- Casas, C. (2009). *Handbook Of Liverworts And Hornworts Of The Iberian Peninsula And The Balearic Islands: İllustrated Keys To Genera And Species*. Institut D'estudis Catalans.
- Çolak, E., Kara, R., Ezer, T., Yuvalı Çelik, G., & Elibol, B. (2011). Investigation Of Antimicrobial Activity Of Some Turkish *Pleurocarpic* Mosses. *African Journal Of Biotechnology*, 10(60), 12905-12908. <https://doi.org/10.5897/Ajb11.1126>
- Çolak, N., & Tülek, Y. (2003). Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu. *The Journal Of Food*, 28(3).
- Dostbil, N., & Ağaoğlu, S. (2003). An İntestigation About Antimicrobial Activity Of Black Crocus (*Stenbergia Fischeriana*). *Journal Of Food Safety*, 23(4), 275-279.
- Georg, L. K., Ajello, L., & Papageorge, C. (1954). Use Of Cycloheximide İn The Selective İsolation Of Fungi Pathogenic To Man. *The Journal Of Laboratory And Clinical Medicine*, 44(3), 422-428.

- Glime, J. M. (2009). Bryophyte Ecology. Ebook Sponsored By Michigan Technological University And The International Association Of Bryologists.
- Gnanasuntharam, P. (2013). Evaluating The Co-Commensal Lifestyles Of *Staphylococcus Aureus* And *Staphylococcus Epidermidis* (Electronic Thesis And Dissertation Repository). Electronic Thesis And Dissertation Repository. Retrieved From <https://objects.scraper.bibcitation.com/user-pdfs/2023-07-20/7b84e92b-21a1-4528-b2d6-aca4b050f89d.pdf>
- Goffinet, B. (2008). Bryophyte Biology (Pp. 1–3). Cambridge University Press.
- Goffinet, B. & Shaw, A.J. (2009) Bryophyte Biology, Second Edition, Cambridge University Press, The Edinburgh Building, Cambridge CB2 8RU, UK, 565 Pp.
- Greven, H. C. (1995). *Grimmia* Hedw. (Grimmiaceae, Musci) In Europe. Backhuys.
- Greven, H.C. (2003). *Grimmias Of The World* Backhuys Publishers. Leiden, Netherlands.
- Guerra, J., Cano, M. J. And Cros, R. M. (2006) *Flora Briofítica Ibérica* Volume 3, Universidad De Murcia, Sociedad Espanola De Briyologia Murcia
- Hazer, Y. , Çölgeçen, H. & Uyar, G. (2017). Briyofitlerden Elde Edilen Fenolik Bileşikler . *Karaelmas Fen Ve Mühendislik Dergisi* , 7 (1) , 333-340 . Retrieved From <https://dergipark.org.tr/en/pub/karaelmasfen/issue/57120/805838>
- Hedenäs, L. (1992). Flora Of Madeiran Pleurocarpous Mosses (Isobryales, Hypnobryales, Hookeriales). J. Cramer.
- Holyoak, D. T. (2014). *Bryum Pseudotriquetrum*. In T. L. Blockeel, S. D. S. Bosanquet, M. O. Hill, & C. D. Preston (Eds.), *Atlas Of British & Irish Bryophytes* (P. 344). *PiSces Publications*.
- Hyvönen, J., & Piippo, S. (1993). Cladistic Analysis Of The Hornworts (Anthocerotophyta) (Vol. 74, Pp. 105–119). J.Hattori Botanic Lab. (Original Work Published)
- Izzo, L., Luz, C., Ritieni, A., Quiles Beses, J., Mañes, J., & Meca, G. (2020). Inhibitory Effect Of Sweet Whey Fermented By *Lactobacillus Plantarum* Strains Against Fungal Growth: A Potential Application As An Antifungal Agent. *Journal Of Food Science*, 85(11), 3920-3926.
- Lewinsky, J. (1993). A Synopsis Of The Genus *Orthotrichum* Hedw. (Musci, Orthotrichaceae). Finnish Bryological Society.
- Majoros, L., Kardos, G., Szabo, B., & Sipiczki, M. (2005). Caspofungin Susceptibility Testing Of *Candida Inconspicua*: Correlation Of Different Methods With The Minimal Fungicidal Concentration. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 49(8), 3486–3488.
- Nyholm E (1986) *Illustrated Flora Of Nordic Mosses*, Fasc. 1. Fissidentaceae – Seligeriaceae. The Nordic Bryological Society, Lund, Pp. 1-72.

- Nyholm E (1993) Illustrated Flora Of Nordic Mosses, Fasc. 3. Bryaceae – Rhodobryaceae – Mniaceae – Cinclidiaceae – Plagiomniaceae. The Nordic Bryological Society, Lund, Pp. 145-244.
- Onbaşılı, D., Altuner, E. M., & Yuvalı Çelik, G. (2011). *Mnium Marginatum* Özütlerrinin Antimikrobiyal Aktivitesi. Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi, 11(2), 205–208.
- Palma, M., & Barroso, C. G. (2002). Ultrasound-Assisted Extraction And Determination Of Tartaric And Malic Acids From Grapes And Winemaking By-Products. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 119-130.
- Pan, X., Niu, Guoguang , & Liu , H. (2003). Microwave-Assisted Extraction Of Tea Polyphenols And Tea Caffeine From Green Tea Leaves. *Chemical Engineering And Processing*, 42, 129–133.
- Pedrotti, C. C. (2001). *Flora Dei Muschi d'Italia* (Vol. 1). Antonio Delfino Editore.
- Sasidharan, S., Ping, K. Y., Latha, L. Y., & Lachumy, S. J. (2012). Screening Methods İn The Study Of Fungicidal Property Of Medicinal Plants. 'Fungicides For Plant And Animal Diseases' 5, 107-118, 2012.
- Schofield, W. B. (2001). *Introduction To Bryology*. 16, USA: The Blackburn Press
- Schumacker, R., & Vána, J. (2005). *Identification Keys To The Liverworts And Hornworts Of Europe And Macaronesia (Distribution And Status)*, Second.
- Senol, G., Kirakli, C., & Halilçolar, H. (2007). In Vitro Antibacterial Activities Of Oral Care Products Against Ventilator-Associated Pneumonia Pathogens. *American Journal Of İnfection Control*, 35(8), 531-535.
- Shaw, AJ., Goffinet, B. 2000. *Bryophyta Biology*. Published By Syndicate Of The Universty Of Cambridge, Pp. 153-169.
- Shouqin, Z., Jun, X., & Changzheng, W. (2005). High Hydrostatic Pressure Extraction Of Flavonoids From Propolis. *Journal Of Chemical Technology & Biotechnology: International Research İn Process, Environmental & Clean Technology*, 80(1), 50-54.
- Silici, S., & Koc, A. N. (2006). Comparative Study Of İn Vitro Methods To Analyse The Antifungal Activity Of Propolis Against Yeasts İsolated From Patients With Superficial Mycoses. *Letters İn Applied Microbiology*, 43(3), 318-324.
- Smith, A. J. E. (2004). *The Moss Flora Of Britain*. Cambridge University Press. (Original Work Published 1978)
- Sümerkan, B., & Gökahmetoğlu, S. (1998). MIC, MBC Testleri, Rutindeki Önemi Ve Uygulamaları. *Flora*, 3(2), 91–95.
- Şimşek, Ö., Canlı, K., & Gürsu, G. (2016). Karasal Yaşamın Başlangıcında Briyofitler. *Anatolian Bryology*, 1-2(2), 70-74

- Tonguç Yayına, ., Yılmaz, S., & Skmen, M. (2019). Determination Of Antioxidant, Antimicrobial And Antitumor Activity Of Bryophytes From Mount Ida (Canakkale, Turkey) . Indian Journal Of Traditional Knowledge, 18(2), 395–401.
- Turmel, M., Bélanger, A. S., Otis, C., & Lemieux, C. (2020). Complete Mitogenomes Of The Chlorophycean Green Algae *Bulbochaete Rectangularis* Var. *Hiloensis* (Oedogoniales) And *Stigeoclonium Helveticum* (Chaetophorales) Provide Insight Into The Sequence Of Events That Led To The Acquisition Of A Reduced-Derived Pattern Of Evolution In The Chlamydomonadales And Sphaeropleales. Mitochondrial DNA Part B, 5(1), 611-613.
- Yildirim Akatin, M., Er Kemal, M., & Batan, N. (2022). Antimicrobial Activities Of Some Bryophytes Collected From Trabzon, Türkiye And Preparation Of Herbal Soap And Cream Using *Pellia Epiphylla* Extract For The First Time. Anatolian Bryology Anadolu Briyoloji Dergisi, 8(1), 30–36. <https://doi.org/10.26672>
- Zander, R. H. (1993). Genera Of The Pottiaceae: Mosses Of Harsh Environments. Bull. Buffalo Soc. Nat. Sci., 32, 1-378.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Gülen Nur HAŞİMOĞLU
Uyruğu : T.C
Medeni hali : Evli

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Ankara Hacı Bayram Veli Üniversitesi	2023
Lisans	İstanbul Üniversitesi	2016
Lise	Halit Armay Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016-2021	MEV. 60.Yıl Uçanevler Ortaokulu	Fen Bilimleri Öğretmenliği
2016	Suat Terimer Anadolu Lisesi	Stajyer/ Biyoloji Öğretmenliği
2015	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı	Stajyer
2014-2015	İstanbul Üniversitesi Bilgisayar Laboratuvarı	Teknik Sorumlu



