



***“Bryoria fuscescens (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., Evernia
prunastri (L.) Ach. ve Ramalina fraxinea (L.) Ach.
Ekstrelerinin Meyvelerde Gelişen Bazı Hasat Sonu
Hastalıkları Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi”***

Gözde KARABULUT



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Evernia prunastri* (L.) Ach. ve
Ramalina fraxinea (L.) Ach. EKSTRELERİNİN MEYVELERDE GELİŞEN BAZI
HASAT SONU HASTALIKLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Gözde KARABULUT
0000-0002-1215-1813

Prof. Dr. Şule ÖZTÜRK
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

Bryoria fuscescens (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Evernia prunastri* (L.) Ach. ve *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. EKSTRELERİNİN MEYVELERDE GELİŞEN BAZI HASAT SONU HASTALIKLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Gözde KARABULUT

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Şule ÖZTÜRK

Günümüzde biyolojik mücadele, hasat sonrası meyve hastalıklarının kontrolünde yeni bir uygulama olarak önemli ölçüde kabul görmüştür. Bu çalışmada, *Bryoria fuscescens*, *Evernia prunastri* ve *Ramalina fraxinea* etanol ekstralarının armut meyveleri üzerinde *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum*'a karşı farklı konsantrasyonlarda *in vitro* ve *in vivo* aktiviteleri değerlendirilmiştir. *In vivo* uygulamalarda 0. saat ve 12. saat olarak adlandırılan 2 deney grubu oluşturulmuştur. 12. saat uygulamalarının 0. saat uygulamalarına göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. *B. cinerea*'ya karşı, *E. prunastri in vivo* koşullarda %10 konsantrasyonda patojenin gelişimini tamamen engellemiştir. Öte yandan, patojenlere karşı *in vivo* 0. saat uygulamalarında *B. fuscescens* lezyon çapını artırıcı yönde etki göstermiştir. Ekstrelerin 12. saat uygulamalarında ise her iki patojende de lezyon çapında azalma eğilimi görülmüştür. Benzer sonuçlar *in vitro* çalışmalarda da gözlenmiştir. *B. fuscescens*, *E. prunastri* ve *R. fraxinea*, %10 konsantrasyonda *B. cinerea* sporlarının çimlenmesini tamamen engellerken, sadece *B. fuscescens* ve *E. prunastri* ekstraları *P. expansum*'un spor çimlenmesini engelleyebilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre liken ekstraları armut meyvelerinde görülen önemli hasat sonu patojenlerinin neden olduğu zararı azaltabilir.

Anahtar Kelimeler: Antifungal, *Botrytis cinerea*, Hasat sonu hastalıkları, Liken ekstresi *Penicillium expansum*.

2022, xiii + 87 sayfa.

ABSTRACT

PhD Thesis

INVESTIGATION ON THE EFFECTS OF EXTRACTS OBTAINED FROM *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Evernia prunastri* (L.) Ach. and *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. AGAINST SOME POST-HARVEST DISEASES OF FRUITS

Gözde KARABULUT

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Şule ÖZTÜRK

Recently, biological control has been widely accepted as a new application in the control of post-harvest fruit diseases. In this study, *in vitro* and *in vivo* effects of *Bryoria fuscescens*, *Evernia prunastri* and *Ramalina fraxinea* ethanol extracts on pear fruits against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* at different concentrations were evaluated. *In vivo* applications were performed in 2 experimental groups (applications at 0 and 12 hour). It was determined that the 12th hour applications were more effective than the 0th hour applications. Against *B. cinerea*, *E. prunastri* completely inhibited the growth of the pathogen at 10% concentration *in vivo*. On the other hand, *B. fuscescens* showed an increasing effect on lesion diameter of pathogens in *in vivo* when applied at 0 hour. In the 12th hour application of the extracts, a decreasing trend was observed in the diameter of lesions belong to both pathogens. Similar results have been observed in *in vitro* studies. *B. fuscescens*, *E. prunastri* and *R. fraxinea* completely inhibited the germination of *B. cinerea* spores at 10% concentration while only extracts of *B. fuscescens* and *E. prunastri* were able to inhibit spore germination of *P. expansum*. According to the results of this study, lichen extracts can reduce the damage caused by important postharvest pathogens in pear fruits.

Key words: Antifungal, *Botrytis cinerea*, Lichens extracts, *Penicillium expansum* Postharvest diseases.

2022, xiii + 87 pages.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında bana yardımcı olan, ilgi ve desteğini hiç eksiltmeyen, yol gösterici olan, engin bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren değerli danışmanım Prof. Dr. Şule ÖZTÜRK'e teşekkür ederim. Tezimin her aşamasında benden yardım ve desteğini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Kadir İLHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Bu süreçte deneyimleri ve bilgilerini benimle paylaşan sevgili hocam Doç. Dr. Seyhan ORAN'a, SEM görüntülerinin elde edilmesinde desteğini ve bilgisini esirgemeyen Prof. Dr. Özer YILMAZ'a, her daim yanımda olan sevgili arkadaşlarım Uzman Biyolog Burcu Kıymet TÖRE, Öğr. Gör. Gamze DÜVEN ve Öğr. Gör. Nihal KANAT'a çok teşekkür ederim.

Bu aşamaya gelmemde en çok emeği geçen, her zaman maddi ve manevi desteklerini arkamda hissettiğim aileme en içten saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması KUAP(F)-2013/24 "Bazı Liken Ekstrelerinin Armut (cv. *Santa maria*) Meyvesinde Gelişen Hasat Sonu Hastalıklarından *Botrytis cinerea* ve *Penicillium expansum* Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması" başlıklı proje kapsamında Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.

Gözde KARABULUT
21/07/2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	35
3.1. Materyal.....	35
3.1.1. Liken örneklerinin toplanması.....	35
3.1.2. Meyve materyali.....	37
3.1.3. Fungal mikroorganizmalar.....	38
3.1.4. Besi ortamları.....	38
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Likenlerin kurutulması ve muhafazası.....	38
3.2.2. Liken ekstrelerinin hazırlanması.....	39
3.2.3. <i>In vitro</i> ve <i>in vivo</i> denemelerinde kullanılacak fungal patojenlerin geliştirilmesi.....	40
3.2.4. <i>In vitro</i> ortamda liken ekstrelerinin, fungus konidilerinin çimlenme ve çim tüpü uzunluklarına etkisinin belirlenmesi.....	40
3.2.5. Armut meyvelerinin lezyon uygulamaları için hazırlanması ve <i>in vivo</i> denemeler.....	41
3.2.6. Elektron mikroskobu ile görüntüleme.....	44
3.2.7. İstatistiksel analiz.....	45
4. BULGULAR.....	46
4.1. <i>In vitro</i> Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Bulgular.....	46
4.1.1. Liken ekstrelerinin <i>Botrytis cinerea</i> konidilerinin çim tüpü uzunluğuna (μm) ve çimlenme yüzdesi üzerine etkisi.....	46
4.1.2. Liken ekstrelerinin <i>Penicillium expansum</i> konidilerinin çim tüpü uzunluklarına (μm) ve çimlenme yüzdesi üzerine etkisi.....	50
4.2. <i>In vivo</i> Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Bulgular.....	54
4.2.1. Liken ekstrelerin <i>Botrytis cinerea</i> lezyon çapı (mm) üzerine etkisi.....	54
4.2.1. Liken Ekstrelerin <i>Penicillium expansum</i> lezyon çapı (mm) üzerine etkisi.....	58
4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme.....	61
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	65
KAYNAKLAR.....	73
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar	Açıklama
FAO	Birleşmiş Milletler Beslenme ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Otoritesi
JMP7	İstatistik Programı
kV	Kilo-volt
LSD	En Küçük Anlamlı Fark
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
mg	Miligram (1×10^{-3} gram)
μ g	Mikrogram (1×10^{-6} gram)
mL	Mililitre (1×10^{-3} litre)
mm	Milimetre
PDA	Patates Dekstroz Agar
PDB	Patates Dekstroz Broth
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Liken materyali A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i> ..	37
Şekil 3.2. Laboratuvara getirilen denemelerde kullanılacak armut meyveleri	37
Şekil 3.3. Soxhlet cihazında liken ekstrelerinin hazırlanması	39
Şekil 3.4. Farklı yoğunluklardaki liken ekstreleri	40
Şekil 3.5. Armut meyvelerinin lezyon uygulamaları için hazırlanması A) Armut meyvelerine yüzey dezenfeksiyonunun yapılması B) İnokulasyon iğneleri ile meyvelerin yaralanması C) Yara yerlerine patojen spor inokulumlarının verilmesi D) Yara yerlerine liken ekstrelerinin verilmesi	42
Şekil 3.6. Uygulama sonrasında 25 °C’de ve %95 nem içeren depoda muhafaza edilen armut meyveleri	43
Şekil 3.7. SEM örneklerinin hazırlanmasında kullanılan liyofizer cihazı	44
Şekil 4.1. %10 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) Kontrol B) <i>B. fuscescens</i> C) <i>E. prunastri</i> D) <i>R. fraxinea</i>	48
Şekil 4.2. %5 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	48
Şekil 4.3. %2,5 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	49
Şekil 4.4. %1 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	49
Şekil 4.5. %10 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü A) Kontrol B) <i>B. fuscescens</i> C) <i>E. prunastri</i> D) <i>R. fraxinea</i>	52
Şekil 4.6. %5 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	52
Şekil 4.7. %2,5 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	53
Şekil 4.8. %1 yoğunluktaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü A) <i>B. fuscescens</i> B) <i>E. prunastri</i> C) <i>R. fraxinea</i>	53
Şekil 4.9. <i>B. fuscescens</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10	56
Şekil 4.10. <i>E. prunastri</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	56
Şekil 4.11. <i>R. fraxinea</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	56

Şekil 4.12.	<i>B. fuscescens</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10	57
Şekil 4.13.	<i>E. prunastri</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	57
Şekil 4.14.	<i>R. fraxinea</i> ekstresinin <i>B. cinerea</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	57
Şekil 4.15.	<i>B. fuscescens</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10	59
Şekil 4.16.	<i>Evernia prunastri</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	60
Şekil 4.17.	<i>R. fraxinea</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	60
Şekil 4.18.	<i>B. fuscescens</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10	60
Şekil 4.19.	<i>E. prunastri</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	61
Şekil 4.20.	<i>R. fraxinea</i> ekstresinin <i>P. expansum</i> ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10	61
Şekil 4.21.	<i>In vivo</i> koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan <i>B. fuscescens</i> ekstresinin 12. saat uygulamasında <i>B. cinerea</i> 'nin oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çimlenmemiş sporlar)	62
Şekil 4.22.	<i>In vivo</i> koşullarda %5 yoğunlukta uygulanan <i>Evernia prunastri</i> ekstresinin 12. saat uygulamasında <i>B. cinerea</i> 'nin oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çimlenmemiş sporlar)	62
Şekil 4.23.	<i>In vivo</i> koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan <i>B. fuscescens</i> ekstresinin 0. saat uygulamasında <i>P. expansum</i> 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (yüksek sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller)	63
Şekil 4.24.	<i>In vivo</i> koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan <i>E. prunastri</i> ekstresinin 12. saat uygulamasında <i>P. expansum</i> 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (az sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller)	63
Şekil 4.25.	<i>In vivo</i> koşullarda %5 yoğunlukta uygulanan <i>E. prunastri</i> ekstresinin 12. saat uygulamasında <i>P. expansum</i> 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çok sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller)	64

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 3.1. Liken örneklerinin toplandığı lokaliteler	35
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> sporlarının çimlenme yüzdesi (%) ve çim tüpü uzunluğuna etkisi.....	47
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> sporlarının çimlenme yüzdesi (%) ve çim tüpü uzunluğuna etkisi	51
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin <i>B. cinerea</i> lezyon çapına (mm) etkileri.....	55
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin <i>P. expansum</i> lezyon çapına (mm) etkileri	59

1. GİRİŞ

Dünyada her yıl insan tüketimi için üretilen gıdanın yaklaşık üçte biri çürüyerek kaybolmakta veya israf edilmektedir. Kayıplar sadece bir gıda israfı olmakla kalmaz, aynı zamanda insan emeği, çiftlik girdileri, geçim kaynakları, yatırımlar ve su gibi kıt kaynaklar için de benzer bir israfı temsil eder (Nxumalo et al., 2021).

2019 yılında üretilen toplam bahçe bitkisi miktarının (meyveler, sebzeler, ağaç yemişleri, kök ve yumrular dâhil) yaklaşık 3,05 milyon ton olduğu ve bunun %34'ünün meyvelerden oluştuğu tahmin edilmektedir (FAO, 2021). Bu mahsullerin üretimi için büyük çabalar ve doğal kaynaklar kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu ürünlerin her biri hem bahçe üretiminde sürdürülebilirliğin sağlanması hem de insan tüketimi açısından çok önemlidir.

Bahçe bitkileri istenmeyen fizyolojik bozuklukların gelişmesiyle yüksek oranda bozulabilir, kalite bozulmasına ve büyük ekonomik kayıplara yol açan çeşitli değişiklikler yaşayabilirler Nxumalo et al. (2021). Mantar enfeksiyonlarının neden olduğu patolojik bozulma, depolama sırasında bozulabilir mahsullerin güvenliği ve organoleptik özellikleri için ana tehdittir. Filamentli mantarlar ayrıca ikincil metabolitler üretmek için dikkate değer bir potansiyel kaynaktırlar. Yaygın olarak mikotoksinler olarak adlandırılan zehirli mantar metabolitleri, gıda ve yem güvenliği için büyük önem taşır (Danzi et al., 2020).

Yaklaşık 5000 bitki mantar patojeni, ekonomik olarak değerli çok sayıda tarım ürününü yok ettiğinden gıda güvenliği için büyük bir tehdit oluşturmaktadır (Meela et al., 2019). Meyveler, düşük pH'ları, daha yüksek nem içeriği ve zengin besin bileşimleri nedeniyle patojenik mantarların kontaminasyonuna karşı çok hassastır. Bu durum çürümeye ve meyvede tüketime uygun olmayan değişimlere neden olur (Tripathi & Dubey, 2004).

Bitkileri mantar saldırılarına karşı korumanın en önemli yöntemi sentetik mantar öldürücülerin kullanılmasıdır, ancak sentetik mantar öldürücülere karşı direnç gelişimi büyük endişe yaratmaktadır (Meela et al., 2019). Yıllarca tekrarlanan kullanımları, doğal

biyolojik sistemleri bozmuş ve bazen mantar direncinin gelişmesine neden olmuştur (Yoon et al., 2013). Bu nedenle özellikle gelişmiş ülkelerde yeni etkili alternatif mücadele yöntemleri üzerinde çalışmalara hız verilmiştir (Onaran & Bayan, 2016).

Doğa, binlerce yıldır biyo-kontrol ajanlarının kaynağı olmuştur ve etkileyici sayıda antimikrobiyal bileşik, doğal kaynaklardan izole edilmiştir. Tüm doğal kaynaklar arasında bitkiler, tıbbi ilgi alanına giren doğal ürünlerin ana ve en popüler kaynağıdır. Antik çağlardan beri insan, yaygın hastalıkları tedavi etmek için bitkileri kullanmıştır. Bitkiler, binlerce yıldır var olan ve insanlığa yeni ilaçlar sunmaya devam eden sofistike geleneksel tıbbi sistemlerin temelini oluşturmuştur (Mehta & Sharma, 2016).

Son zamanlarda, hem çevre hem de insan sağlığı için güvenli oldukları düşünüldüğünden, antimikrobiyal aktiviteleri için bitki özleri ve uçucu yağların kullanımına ilgi artmıştır. Bu tür bazı ilaçlar, bitki patojenlerine ve özellikle meyve ve sebzelerin hasat sonrası hastalıklarından sorumlu olanlara karşı geniş bir aktivite spektrumu göstermiştir (Feliziana et al., 2013).

Meyve ve sebzelerin hasat sonrası hastalıklarının biyolojik kontrolüne günümüzün sentetik fungusitlerinin kullanımına uygun bir alternatif olarak da büyük önem verilmiştir. Sentetik mantar öldürücülerin dezavantajları, özellikle çevresel açıdan sağlıklı ve biyolojik olarak parçalanabilir olan diğer olası kontrol yöntemlerinin geliştirilmesine olan ilgiyi artırmıştır. Bu nedenle, sentetik mantar öldürücülerin toksik olmayan ve özellikle bitki kökenli doğal ürünlerle değiştirilmesi büyük ilgi görmektedir (Tripathi & Dubey, 2004).

Genel olarak biyopestisitler, doğal ürünler, yüksek bitki kaynaklı, hayvan kaynaklı ürünler ve mikroorganizma kaynaklı olanlar ise; virüsler, bakteriler, mantarlar, nematodlar ve protozoalar olarak sınıflandırılır. Bitkisel mantar öldürücülerin modern tarım kimyasalları araştırmalarına ilham verme ve onları etkileme konusunda muazzam bir potansiyele sahip olduğu ortaya çıktığından, tarım için uygun bitkisel kökenli mantar öldürücüler üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (de Rodriguez et al., 2011; Mamoci et al., 2011; Yoon et al., 2013).

Bitkilerin ikincil metabolizması, böceklere, patojenlere karşı koruma sağlayan ve diğer bitki türlerinin büyümesini sınırlayan çok sayıda biyoaktif maddenin sentezinden sorumludur. Uçucu yağlar ve bitki özleri; alkaloidler, siyanojenik glikozitler, glukozinolatlar, lipitler, fenolikler, terpenler, poliasetilenler ve politerpenler dâhil olmak üzere çok sayıda biyoaktif madde içerir. Bilim insanları, bu moleküllerin çeşitliliğini, haşere ve patojenlerin entegre yönetiminde kullanımlarını araştırmışlardır. Bitki özleri ve uçucu yağlara dayalı ürünler, çeşitli ülkelerde bitki hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, pestisit pazarındaki bitkilerin yüksek potansiyeline rağmen, özellikle de tarımsal zararlıları yönetmek için çevre dostu seçeneklere artan talebi düşünürsek, bitki bazlı ürünlerin sayısı sınırlı kalmaktadır (Borges et al., 2018). Bu bağlamda, biyokontrol yaklaşımları, ciddi bitki hastalık yönetimi için çevre dostu bir kontrol stratejisi geliştirmeye yardımcı olabilir.

Çıplak kayalık alanlarda bitki örtüsünün oluşumunda likenlerin öncül rolleri olduğu bilinmektedir. Likenler, çorak kayalık bölgenin kolonileşip gelişme sırasında oksalik asit, karbonik asit vb. enzimler oluşturarak kaya parçalanmasına öncülük eden ilk üyelerdir (Gautam et al., 2021).

Likenler, genellikle bir mantar ortağı (mikobiyont) ile bir veya daha fazla fotosentetik ortak (fitobiyont), çoğunlukla yeşil bir alg veya mavi-yeşil bakteriden oluşan simbiyotik organizmalardır. Liken türleri, dünyadaki en aşırı ortamlardan bazılarında (arktik tundra, sıcak çöller, kayalık kıyıları, zehirli cüruf yığınları vb.) ortaya çıkan benzersiz simbiyotik organizmalar olarak küresel mantar biyoçeşitliliğinin %20'sinden fazlasını oluştururlar (Zambare & Christopher, 2012).

Likenler, diğer bitkilerde bulunmayan birçok, ender rastlanan ikincil ürünler üretirler. Aromatik ürünlerin birçoğunun benzersizliği, liken maddelerine karşı kimyasal bir ilgi uyandırmıştır. Likenler, endüstriyel açıdan önemli biyolojik aktiviteler için yeterince kullanılmayan bir kaynaktır ve potansiyelleri henüz tam olarak keşfedilmemiş ve kullanılmamıştır. Likenlerden ekstre edilen biyoaktif bileşikler, biyofarmasötik uygulamalarda ve insan yaşamını destekleyecek yeni formülasyonların veya yeniliklerin üretiminde büyük umut vaat etmektedir. İkincil metabolitler genellikle mikobiyont

tarafından üretilen ve likenlerin yüzeyinde amorf veya kristaller şeklinde biriken liken asitleri olarak adlandırılır. Liken asitleri, antioksidan, antikanser, enzim inhibitörü, antiviral, antifungal, antidiyabetik, allelopatik, antipiretik, mahsul büyümesini inhibe edici, sitotoksik, anti-hepatotoksik ve antiproliferatif dâhil olmak üzere çeşitli biyolojik potansiyele sahiptir (Gautam et al., 2021).

Armut (*Pyrus communis* L.), Rosales takımının, Rosaceae familyasının, *Pyrus* cinsinde olan bir meyvedir. Dünyada yetiştiriciliği yapılan ve 22 türü bulunan *Pyrus* cinsinin içerisinde *Pyrus communis* L. ekonomik olarak yetiştiriciliği yapılan en önemli türdür (Serttaş & Öztürk, 2020). Ilıman iklime sahip dünyanın çeşitli yerlerinde yetiştirilmektedir. Türkiye'de armut, elmadan sonra ikinci önemli çekirdekli meyvedir ve ülkenin hemen her yerinde yetiştirilmektedir (Öztürk et al., 2009). Meyvesi iri-orta iri, boyun kısmı uzunca olup, meyve eti beyaz, orta sulu, az tatlıdır. Temmuz sonu-Ağustos başı hasat edilir. Uzun süre depolanabilir. Bursa, Antalya ve Ankara illeri Türkiye'nin önde gelen armut üreticileridir. Türkiye'nin toplam yıllık üretimi 462.000 ton civarındadır ve Türkiye, Çin, ABD, İtalya ve Arjantin'den sonra dünya genelinde 5. sırada yer almaktadır (Öztürk et al., 2019).

Gıdalarda hasat sonrası bozulmaların önemli bir çoğunluğunu oluşturan fungal patojenler *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus*, *Monilinia*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Gloesporium* ve *Mucor* cinsleri olarak sayılabilir (Ağırman et al., 2019).

Türkiye'de armut meyvesi çok tüketilen meyveler listesinde yer almakta ve tüketim her yıl artmaktadır. Ana sorun, armut meyvelerinin hassas yapısı nedeniyle meyvelerin hasat sonrası nakliye sırasında ortaya çıkan fungal kaynaklı çürümelere sebep olduğu ürün kaybıdır. Bu fungal kaynaklı çürümelere *Botrytis cinerea* Pers. (Kurşuni küf) ve *Penicillium expansum* Link (Mavi küf) neden olur (Davide et al., 2016).

Tıbbi bitkileri kullanarak birçok hasat sonrası patojeni kontrol etme olasılığı, çok çeşitli bahçe bitkileri üzerinde araştırılmıştır. Modern tarımda, bahçe bitkilerinin hasat sonrası çürümesini kontrol etmek için sentetik mantar öldürücülerin uygulanması en etkili ve yaygın yöntem olmaya devam etmektedir. Bununla birlikte, tüketicilerin mantar ilacı

kalıntıları içermeyen taze ürünlere yönelik artan talepleri, araştırmacıların, taze ürünlerin hasat sonrası çürümesini kontrol etmek için alternatif yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunmuştur. Hasat sonrası fungusitlerin uygulanmasının neden olduğu kanser gelişimi, infertilite ve hamilelik döneminde embriyo üzerindeki etkileri gibi artan sağlık tehlikeleri, bazı ürünlerde kısıtlamaya veya organik tarımda tamamen yasaklanmasına yol açmıştır (Nxumalo et al., 2021).

Bu nedenle, mantar bitki patojenlerine karşı engelleyici aktiviteye sahip bitki özlerinin kullanılması, doğal ürünlerin mevcudiyetine dayalı olarak çevresel olarak kabul edilebilir mantar öldürücülerin geliştirilmesine yol açmaktadır.

Bu çalışmada, *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Evernia prunastri* (L.) Ach. ve *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. ekstralarının armut üzerinde gelişen bazı hasat sonu hastalıkları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Liken ekstraları ile yürütülen araştırmalar kapsamında hasat sonu hastalıklarına karşı savaşımında *in vivo* uygulamalara rastlanılmamıştır. Bu tez kapsamında denenecek olan liken ekstralarının hasat sonu hastalıklarına karşı kullanılması, meyve çürümesinin azaltılması konusunda ilk olması nedeniyle de önem arz etmektedir.

Araştırmada kapsamında kullanılan liken ekstralarının, insan ve çevre üzerinde zararlı olmaması ve kalıntı riski oluşturmaması elde edilen bulguların önemini daha da artırmaktadır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Simbiyotik yaşamın en güzel örneklerinden olan likenler, birçoğu asit özellikte olan ve liken asitleri olarak tanımlanan metabolik ürünlere sahiptirler. Geçmiş tarihlerde bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan likenlerin kimyasal içeriklerinin ayrıntılı olarak araştırıldığı görülmektedir. Bu çalışmalar sonunda bazı mikroorganizmalar üzerinde etkili olan liken maddeleri tanımlanabilmiştir. Son yıllarda liken metabolitlerinin antikanserojenik etkilerinin yoğun olarak araştırıldığı izlenmektedir.

Bu doktora tezi kapsamında liken metabolitlerinin antifungal etkilerine yönelik çalışmalar kronolojik bir plan dâhilinde kaynak araştırmasında ele alınmıştır.

Likenlerin antibiyotik özellikleri ile ilgili ilk çalışma *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*'e karşı 52 liken türünün antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi için yapılmıştır. Birçok liken metabolitinin gram-pozitif bakterilere karşı etkili olurken gram-negatif bakterilere karşı bir etki göstermediği bulunmuştur (Burkholder et al., 1944).

Çok sayıda liken maddesi *Mycobacterium tuberculosis* ve *M. aurum*'a karşı *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Metabolitler içinde *Cladonia arbuscula*'dan elde edilen usnik asit 32 µg/ml MIC değeri ile en yüksek engellemeyi göstermiştir. *Stereocaulon alpinum*'dan izole edilen atranorin ve lobarik asit, *Parmelia saxatilis*'den izole edilen salazinik asit ve *Cetraria islandica*'dan izole edilen protolikesterinik asit 125 µg/ml'den yüksek MIC değerlerinde engelleme göstermiştir (Ingólfssdóttir et al., 1998).

Ramalina farinacea'nın su etanol, kloroform, *n*-hekzan ekstraktları ve fitokimyasal bileşenleri, antibakteriyel, antifungal ve sitotoksik özellikleri *Aspergillus niger*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Trichophyton rubrum* ve *T. mentagrophytes*'a karşı araştırılmıştır. Etanol, kloroform ve *n*-hekzan ekstraktları tüm mikroorganizmalara karşı engelleme gösterirken su ekstresi *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* hariç engelleyici yönde etki göstermemiştir (Esimone & Adikwu, 1999).

Parmelia kamstchandalis'in etanol ekstresinden izole edilen etil haematommate, etil 2,4-dihidroksi 6-metil benzoat ve metill- β -orsellinate metabolitlerinin, gram(+) ve gram(-) bakteriler; *Aerohydrophylla* sp., *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *B. subtilis*, *Echerichia coli*, *Klebsiella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi* A, *S. paratyphi* B, *Sarcina lutea*, *Shigella boydii*, *S. dysenteriae*, *S. flexneri*, *S. sonnei*, *Streptococcus β -haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*'ya karşı farklı seviyelerde antimikrobiyal etki göstermiştir (Mazid et al., 1999).

Güney İspanya'da bazı likenler üzerinde antimikrobiyal etki araştırılmış ve bazı liken maddeleri belirlenmiştir. Usnik asit içeren likenlerin gram-pozitif bakteriye karşı çok yüksek bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Rowe et al., 1999).

Xanthoria fallax, *X. elegans*, *X. polycarpa*'dan 6 farklı antrokinon (eryhroglaucin, physcion, ksantorin, emodin, fallcinal ve teloschistin) izole edilmiştir. Antrokinonlar bazı fitopatogen bakteri türlerine karşı seçici ve geniş spektrumlu antimikrobiyal etki göstermiştir (Manojlović et al., 2000).

Heterodermia leucomela'nın su ekstresi bazı bitki ve insan patojenlerine geniş spektrumlu antifungal özellik göstermiştir. Bitki patojeni funguslar, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. parasiticus*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Penicillium implicatum*, *P. italicum* ve *P. miniolutem*'u 80 $\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ 'de engellediği belirtilmiştir (Shahi et al., 2001).

Cetraria islandica'nın su ekstresi antioksidan etki, süperoksit anyon radikal ve serbest radikal oluşumu engellemesi için araştırılmıştır. *C. islandica*'nın su ekstresi yüksek antioksidan etki göstermiştir. Antioksidan etkiye benzer şekilde *C. islandica*'nın gücün indirgenmesi, süperoksit anyon radikal temizlenmesi ve serbest radikal temizlenme etkisi konsantrasyona bağlı olarak ve miktarının artışı ile paralel olarak artış göstermiştir (Gülçin et al., 2002).

Caloplaca schaereri ekstresi ve antrakinonları *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas fluorescens*'e karşı antibakteriyel etki ve *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Penicillium verrucosum* ve *Trichoderma harzianum* üzerinde antifungal etki için araştırılmıştır. Saf etanol ekstresi, *B. subtilis*'e karşı 320 µg ml⁻¹ MIC değerinde etkili olmuştur. Saf ekstrenin yanı sıra genellikle antrakinonlar denenilen bakterilere göre *A. niger*, *C. albicans*, *P. verrucosum* ve *T. harzianum*'a karşı daha etkili bulunmuştur. Fallacinol denenilen maddelerin içinde tüm funguslara karşı en etkili olanıdır (Manojlović et al., 2002).

Cladonia convoluta, *C. rangiformis*, *Evernia prunastri*, *Parmelia caperata*, *P. perlata*, *Plasmatia glauca* likenlerinden *n*-hekzan, dietil eter ve metanol kullanılarak elde edilen 24 ekstrenin sitotoksik aktivitesi 2 murin, 4 insan kanser hücre çizgisi ve kansersiz hücreler kullanılarak *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. MTT deneyi her liken türünün en azından bir ekstresi için test edilen kanser hücreleri üzerinde belirgin bir toksisiteyi açığa vurmuştur (Bezivin et al., 2003).

Usnea barbata'nın aseton, metanol ve su ekstraları 10 bakteri (*Bacillus subtilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus viradans*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus aureus*) ve 5 fungus (*Alternaria alternaria*, *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis*, *Penicillium notatum* ve *Schizophyllum commune*) karşı katı agar ortamda antimikrobiyal etkisini belirlemek için araştırılmıştır. Ekstreler *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus viradans* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde 0,1 mg/ml MIC değeri gibi düşük bir konsantrasyonda önemli bir etki göstermiştir. Patojenlere karşı su ekstresi en düşük aktiviteyi gösterirken aseton ekstresi en yüksek etkiyi göstermiştir (Madamombe & Afolayan, 2003).

Parmelia cirrhatum'un 60-80 µl/mL konsantrasyonlarının denenilen patojenik funguslara (*Alternaria alternata*, *A. candidus*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. parasiticus*, *A. ustus*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladasporioides*, *Curvuluria lunata*, *Epidermophyton floccosum*, *Fusarium moniliforme*, *Microsporium audouinii*, *M. gypseum*, *Penicillium implicatum*, *P. italicum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *T. rubrum*

ve *T. tonsurans*) karşı oldukça etkili olduğu bulunmuştur. Ekstrenin, 80 µl/mL'de inokulum potansiyelinin en etkili dozu olduğu tespit edilmiştir (Shahi et al., 2003).

Evernia prunastri, *Hypogymnia physodes* ve *Cladonia portentosa*'nın aseton ekstresinin bitki patojeni funguslardan *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Stagonospora nodorum* ve *Ustilago maydis*'e karşı antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Özellikle *Evernia prunastri* ve *Hypogymnia physodes*, *P. ultimum*, *P. infestans* ve *U. maydis*'in miseliyal gelişimini tamamen engellemiştir. Evernik asit tarafından *P. infestans* gelişiminin tamamen engellendiği ortaya konmuştur. *P. ultimum*, *P. infestans*'ın gelişimi ise sırasıyla (-) usnik asit ve evernik asit tarafından düşük bir düzeyde engellenmiştir (Halama & Haluwin, 2004).

Ramalina farinacea'nın aseton ekstresi ve (+) usnik asit bileşeninin *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*'ya karşı antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada norstiktik asidin, *Y. enterocolitica* dışındaki mikroorganizmalara karşı etkili olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca fungal türler, *Alternaria alternata*, *A. citri*, *A. tenuissima*, *Cochliobolus sativus*, *Fusarium. culmorum*, *F. moniliforme*, *F. oxyporum*, *F. solani*, *Penicillium notatum* ve *P. parasiticus*'a karşı da antifungal etki gözlenmemiştir (Tay et al., 2004).

Cladonia foliacea'nın kloroform, dietileter, aseton, petrol eteri, etanol ekstraları ile usnik asit, atranorin, fumaproparrik asit bileşenlerinin antimikrobiyal etkileri 9 bakteri ve mayalara karşı araştırılmıştır. Ekstre ve metabolitlerin *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Proteus vulgaris*'e karşı antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Yılmaz et al., 2004).

Rhamnus frangula ve *Rubia tinctorum*'un metanol ekstraları ve antrakınon aglikonlardan alizalin ve emodin antifungal etkisi başlıca sekonder maddesi parietin olan *Caloplaca cerina* ile karşılaştırılmıştır. Metanol ekstralarının denenen fungusların tümüne

(*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aureobasidium pullulans*, *Doratomyces stemonitis*, *Mucor mucedo*, *Penicillium verrucosum* ve *Trichoderma viride*) karşı etkili olduğu bulunmuştur. Fakat liken ve bitkilerden izole edilen temel antrakinon aglikonların funguslara karşı ekstrelere oranla daha az etkili olduğu bulunmuştur. Denenen materyaller arasında liken ekstresi en yüksek etkiyi *Trichoderma viride*'ye karşı gösterirken metabolitler içinde en yüksek etki emodin ile *Alternaria alternata*'ya karşı bulunmuştur (Manojlović et al., 2005).

Cladonia foliacea, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *E. prunastri* ve *Neofuscella pulla*'nın metanol ekstresinin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. *C. foliacea*, *E. divaricata*, *E. prunastri* ve *N. pulla* ekstreleri kullanılan yöntemlerde antioksidan etki göstermezken *D. miniatum* ekstresi 396,1 mg/ml konsantrasyonda engelleme göstermiştir. Aynı zamanda ekstrelerin denenen bazı bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiş ancak mayalara karşı bir etki gözlenmemiştir (Aslan et al., 2006).

Xanthoparmelia pokornyi'nin etanol, petrol eteri, kloroform, aseton ve dietil ekstreleri ile *Xanthoparmelia pokornyi*'nin giroforik ve stenosporik asit içerikleri bazı besin kaynaklı bakteri ve funguslar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ekstreler ve asitler *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı antimikrobiyal aktivite gösterirken, test edilen 10 fungus (*Alternaria alternata*, *A. citri*, *A. tenuissima*, *Aspergillus fumigatus*, *A. parasiticus*, *A. niger*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *F. solani* ve *Penicillium notatum*) karşı etkili bulunmamıştır (Candan et al., 2006).

Ramalina fastigiata, *R. capitata*, *R. polymorpha*, *R. pollinaria* ve *R. fraxinea*'nın aseton ekstrelerinin *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* ve *Bacillus megaterium*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlendiği çalışmada usnik asit miktarının artmasına paralel olarak antimikrobiyal aktivitenin arttığı görülmüştür (Cansaran et al., 2006a).

Rhizoplaca chrysoleuca, *R. melanophthalma* ve *R. peltata*'nın usnik asit bileşeninin farklı dozları *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal etkisi için araştırılmıştır. Usnik asit miktarına paralel olarak mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkininde arttığı görülmüştür (Cansaran et al., 2006b).

Parmelia saxatilis, *Plasmatia glauca*, *Ramalina pollinaria*, *R. polymorpha* ve *Umbilicaria nylanderiana*'nın metanol ekstresinin *in vitro* koşullarda antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. *Parmelia saxatilis*, *Plasmatia glauca*, *Ramalina pollinaria* ve *R. polymorpha* aktivite göstermezken, *Umbilicaria nylanderiana* 400,2 µl/ml'de engelleme sağlamıştır. Ekstrelerin aynı zamanda denenen bazı bakteri, maya ve funguslara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Güllüce et al., 2006).

Aspicilia radiosa, *Cladonia convoluta*, *C. firma*, *Diplochistes scruposus*, *Dirina repanda*, *Lecanora muralis*, *Pertusaria mammosa*, *Ramalina canariensis*, *R. subfarinace*, *Roccella fuciformis* ve *Xanthoria calcicola*'nın antimikrobiyal etkileri araştırılmış ve bu likenlerin sahip oldukları metabolitler belirlenmiştir. *Bacillus cereus*, *B. megaterium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerinde usnik asit içeriği açısından zengin *Cladonia firma*, *Lecanora muralis*, *Ramalina canariensis* ve *R. subfarinace*'nin en etkili türler olduğu bulunmuştur. Ayrıca, atranorin, eritritol likenesterinik asit, stiktik asit, usnik asit, evernik asit ve ursolik asidin bu likenlerde en çok bulunan metabolitler olduğu tespit edilmiştir (Saenz et al., 2006).

Pseudevernia furfuracea var. *furfuracea* ve *Pseudevernia furfuracea* var. *ceratea*'nın aseton, dietil eter kloroform, ekstreleri ve fisodik asit, kloroatranorin, atranorin ve oliverik asit bileşenlerinin MIC değerleri ve antimikrobiyal etkileri bazı mikroorganizmalara karşı araştırılmıştır. Hemen hemen tüm metabolitler, *Alternaria alternata*, *Ascochyta rabiei*, *Aspergillus niger*, *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Fusarium culmorum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Penicillium notatum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı

antimikrobiyal etki göstermiştir. Ekstrelerin *Alternaria citri*, *A. tenuissima*, *Escherichia coli*, *Gaeumannomyces graminis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. syringae*, *Salmonella typhimurium*'a karşı antimikrobiyal etkisinin olmadığı bulunmuştur (Türk et al., 2006).

Parmelia sulcata'nın aseton, kloroform, dietil eter metanol ve petrol eteri ekstreleri ve salizininik asit bileşeni 28 besin kaynaklı bakteri ve fungusu karşı antimikrobiyal etkilerini belirlemek üzere araştırılmıştır. Petrol eteri ekstresi dışında tüm ekstreler *Aeromonas hydrophila*, *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Listeria monocytogenes*, *Proteus vulgaris*, *Penicillium notatum* *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* ve *Yersinia enterocolitica*'ya karşı antimikrobiyal etki göstermiştir (Candan et al., 2007).

Lasallia pustulata, *Parmelia sulcata*, *Umbilicaria crustulosa* ve *U. cylindrica*'nın aseton, metanol ve su ekstresinin antimikrobiyal özellikleri *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Elde edilen bu sonuçlar bu likenlerin aseton ve metanol ekstrelerinin seçici antifungal özelliklerinin yanı sıra test edilen bakteri türlerinin büyük bir kısmı üzerinde antibakteriyel etkileri olduğunu göstermiştir. Liken ekstrelerinin MIC değerleri arasında *Lasallia pustulata*'nın aseton ekstresi *Bacillus mycoides*'e karşı en düşük etkiyi göstermiştir. Denenen tüm likenlerin su ekstreleri ise patojenler üzerinde engelleyici etki göstermemiştir (Ranković et al., 2007).

Aspicilia cinerea, *Collema cristatum*, *Ochrolechia androgyna*, *Physcia aipolia* ve *Physcia caesia*'nın aseton, metanol ve su ekstrelerinin antifungal ve antibakteriyel etkileri 6 bakteri ve 11 fungus türüne karşı *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Genellikle metanol ekstresi mikroorganizmaların çoğunu engellemiştir. Likenlerin su ekstrelerinin antifungal etki göstermediği tespit edilmiştir (Ranković et al., 2007).

Dermatolojik patojen bakteri ve mayalar üzerinde 6 bitki ekstresinin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Denenen bitki maddeleri; usnik asit, karnosol, karsonik asit, ursolik asit, oleanolik asit, harpagosid, bosvellik asit ve gentiopikrosidedir. Ekstreler ve sekonder metabolitler aerobik, anaerobik bakteri ve mayaların bulunduğu 29 mikroorganizmaya

karşı denenmiştir. *Usnea barbata* ekstresi ve usnik asit özellikle anaerobik bakterilere karşı en etkili olan ekstrelerdir. *U. barbata* ekstresi etkin bir şekilde *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* ve *Corynebacterium* türleri, gibi bazı gram pozitif bakterilerinin gelişimini engellemiştir. Dimorfik mayalardan *Malassezia furfur*'un gelişiminde *U. barbata* ekstresi ile engellenebilmiştir (Weckesser et al., 2007).

Liken sekonder ürünlerinden (-) ve (+) ve usnik asit *Culex pipiens*'in larvalarına karşı *in vitro* koşullarda insektisidal etki için araştırılmıştır. Tüm maddeler güçlü larvasidal etki göstererek 5 ve 10 ppm dozlarında 24 saatte 3. ve 4. larval dönemde %100 ölüm oranına sebep olmuştur (Çetin et al., 2008).

Hypogymnia physodes, *Parmelia caperata*, *Physcia aipolia* ve *Umbilicaria polyphylla*'dan izole edilen giroforik asit, atranorin, usnik asit ve fisodik asidin *in vitro* koşullarda antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma kapsamında, 6 bakteri (*Bacillus mycoides*, *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*) ve 10 fungus (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor mucedo*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium purpurescens*, *P. verrucosum* ve *Trichoderma harzianum*) türü kullanılmıştır. Genellikle bütün izole edilen maddelerin insan ve hayvan patojenleri olan mikroorganizmalara karşı oldukça yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir. Bakteriler ise funguslara oranla daha yüksek bir duyarlılık göstermiştir. En düşük antimikrobiyal etki ise 1 mg/ml konsantrasyonda mikroorganizmaların çoğunu engelleyen fisodik asit için kaydedilmiştir (Ranković et al., 2008).

And dağlarında yaygın olarak görülen liken taksonlarından *Protousnea poeppigii* ve *Usnea florida*'dan elde edilen ekstreler, 50-100 mg/ml değerleri arasında patojenik funguslardan *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *T. rubrum*'a karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Ekstrelerden, 4 ana metabolit izole edilmiş, İzodivarisatik asit ve divarisatinik asit *M. gypseum*, *T. mentagrophytes*'e 50 mg/ml'de ve *Trichophyton rubrum*'a karşı 100 mg/ml'de antifungal etki göstermiştir (Schmeda-Hirschmann et al., 2008).

Kore ve Çin'de liken oluşturan funguslar, kırmızıbiberde antraknoz etmeni *Colletotrichum acutatum*'a karşı antifungal etkisini belirlemek amacıyla araştırılmıştır. Özellikle *Leconara argentata* %68 oranında *C. acutatum*'un gelişimini engelleyerek en etkili liken türü olmuştur. Diğer likenlerin etkisi ise şu düzeyde olmuştur, *Cetrelia japonica* (%61,4), *Ramalina conduplicans* (%59,5), *Umbilicaria esculenta* (59,5), *R. litoralis* (%56,7), *Cetrelia braunsiana* (56,5), *Nephromopsis pallescens* (%56,1), *Parmelia simplicior* (%53,8) (Wei et al., 2008).

Üç farklı liken taksonunun substratlarından alınan bakteri türlerinin sayıları ve koloni miktarları üzerine yapılan bir çalışmada sekonder metabolitlerden yoksun *Peltigera rufescens*'in toprak bakterileri üzerinde inhibisyona engel olmadığı görülmüştür. Bunun yanı sıra bazı sekonder metabolitlere sahip *Peltigera neckerii*'nin toprak bakterileri üzerinde gelişimlerini negatif yönde etkileyen bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. İncelenen taksonlar arasında en çok sayıda sekonder metabolite sahip olan *Cladonia rangiformis*'in bu liken türleri arasında en yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğu belirtilmiştir (Akpınar et al., 2009).

Liken metabolitlerinden biyolojik kimyasal olarak yararlanma konusunda yapılan bir çalışmada; çeşitli likenlerden izole edilen liken oluşturan mantarların bitki patojen funguslarının hücre duvarı yıkımına neden olan enzimler ürettiği tespit edilmiştir (Jeon et al., 2009).

Cladonia furcata, *Ochrolechia androgyna* ve *Parmelia conspersa*'dan izole edilen fumarprotesetarik asit, lekanorik asit, protosetarik asit ve stistik asidin, çeşitli funguslara (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Botrytis cinerea*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor mucedo*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium purpurescens*, *P. verrocosum* ve *Trichoderma harzianum*) karşı antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Araştırılan tüm liken maddeleri denenen tüm mikroorganizmaların gelişimini engellemiştir. Bakteriler funguslara oranla daha yüksek bir duyarlılık göstermiştir (Ranković et al., 2009).

Retigerik asidin *in vitro* antifungal etkisi *Lobaria kurokawae*'den izole edilen pentasiklik triterpenoidin maddesinin tek başına ve flukonazol, ketokonazol ve itrakonazol kombinasyonları *Candida albicans*'a karşı *in vitro* antifungal etkisi için araştırılmıştır. On farklı *C. albicans* izolatına karşı MIC değerleri 8-16 µg/ml arasında sınıflandırılmıştır. (Sun et al., 2009).

Lobaria pulmonaria likeninin metanol, kloroform ve su ekstralarının *Drosophila melanogaster*'in ömür uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. *L. pulmonaria*'nın metanol, kloroform ve su ekstralarına maruz bırakılan populasyonlarında da ömür uzunluğu konsantrasyon artışına paralel olarak artmıştır. Metanol ekstresinin kloroform ve su ekstralarına göre daha etkili, su ekstresinin ise metanol ve kloroform ekstralarına oranla daha düşük etkiye sahip olduğu görülmüştür (Uysal et al., 2009).

Alectoria sarmentosa, *Bryoria fuscescens*, *Evernia divaricata*, *Platismatia glauca* ve *Ramalina farinacea* aseton ve kloroform ekstralarının *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri, üç gram negatif bakteriye (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ATCC 11666 ve *Acinetobacter* sp.) karşı kâğıt disk yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Tüm ekstralarının antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu, *A. sarmentosa*'nın en iyi antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bulunmuştur (Çobanoğlu et al., 2010).

Parmotrema dilatatum, *Parmotrema tinctorum*, *Pseudoparmelia sphaerospora* ve *Usnea subcavata* likenlerinden elde edilen fenolik maddeler ve ekstraller antitüberküloz etkisini belirlemek amacı ile incelenmiştir. Depsidler, depsidonlar, ksantonlar, usnik asit ve 7 arselenik asit esterleri, 5 salizininik asit 8',9'-*O*-alkol ve likeksanton türevleri *Mycobacterium tuberculosis*'a karşı etkilerini belirlemek için araştırılmıştır. Diffraktaik asidin en aktif madde olduğu bunu norstiktik ve usnik asidin takip ettiği belirlenmiştir. Hipostik asit ve protosetrarik asit, orta derecede bir engelleyici etkiye sahiptir. Diğer maddeler ise *M. tuberculosis*'in gelişimi üzerinde düşük bir engelleme göstermiştir (Honda et al., 2010).

Bir başka çalışmada Antarktika'da yayılış gösteren *Ramalina terebrata*'dan usnik asit, usimin A, usimin B, usimin C ve ramalin izole edilmiştir. Denenen tüm örnekler *Bacillus*

subtilis'e karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Saf ekstre ve usnik asit ise *Staphylococcus aureus*'a karşı antibakteriyel etki göstermiştir (Paudel et al., 2010).

Parmelia reticulata'nın hekzan, etil asetat ve metanol ekstralarının antifungal aktivitesi, toprak kaynaklı patojenik funguslar, *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia solani*, *R. bataticola*, *Fusarium udum*, *Pythium aphanidermatum* ve *P. debaryanum*'a karşı araştırılmıştır. Protolikesterinik asidin antifungal aktivitesinin, ticari bir fungusit olan heksakonazol ile karşılaştırılabilir olduğu bulunmuştur (Goel et al, 2011).

Umbilicaria shellulosa, *U. cylindrica* ve *U. polyphylla* likenlerinin aseton ekstralarının *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktiviteleri araştırılmıştır. Tüm ekstraların, güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Kosanić et al., 2012a).

Likenler geleneksel tıpta sarılık, akciğer, mide ve kafatası hastalıkları gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Bu çalışmada üç liken türü *Parmelia caperata*, *Parmelia sulcata* ve *Parmelia saxatilis*'in aseton ekstralarının antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser potansiyelleri test edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal aktivite, nispeten düşük konsantrasyonlarda test edilen tüm bakteri ve fungusları inhibe eden *P. sulcata*'nın aseton ekstresi ile oluşmuştur. *P. caperata*'nın aseton ekstresi, en düşük antimikrobiyal aktivitedir. MIC, test edilen tüm bakterilere karşı 25 mg L⁻¹ iken mantarlar için, *C. albicans* ve *M. mucedo*'ya karşı 0.78 mg L⁻¹ ile 50 mg L⁻¹ arasında değişmektedir. Tüm ekstraların, 9,5 ila 22,95 µg L⁻¹ arasında değişen IC50 değerleri ile güçlü antikanser aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Kosanić et al., 2012b).

Everniastrum cirrhatum (Parmeliaceae), ılıman bölgelerde genellikle ağaç kabuklarında gelişen yapraksı bir makroliken türüdür. *E. cirrhatum*'un antifungal ve sitotoksik aktivitesinin ilk kez rapor edildiği çalışmada ekstrenin antifungal aktivitesi (10-100 mg/ml), iki klinik fungal izolat *Candida albicans* ve *Cryptococcus neoformans*'a karşı test edilmiştir. Ekstrenin (0-1.000 µg/ml) sitotoksik aktivitesi ise, tuzlu su karidesi *Artemia nauplii*'ye karşı değerlendirilmiştir. Metanol ekstresinin, fungusların gelişmesini doza bağlı bir şekilde etkilediği gözlenmiştir. Metanol ekstresine duyarlılığın *C. neoformans* üzerinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Ramamoorthy et al., 2012).

Bir başka çalışmada, *Parmelia caperata*, *P. sulcata* ve *P. saxatilis* likenlerinin aseton ekstraları antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser potansiyelleri açısından test edilmiştir. Üç *Parmelia* türünün aseton ekstralarının fitokimyasal analizi HPLC-UV yöntemiyle belirlenmiştir. Bu ekstradaki baskın fenolik bileşiklerin, protosetarik ve usnik asit (*P. caperata*) ve depsidon ile salazinik asit olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda salazinik asidin, protosetarik asitten daha güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Her iki bileşik de 0.015-1 mg/ml arasında değişen MIC değerleri ile oldukça aktiftir. Ayrıca, salazinik asit ve protosetarik asidin, 35.67-60.18 µg/ml arasında değişen IC(50) değerleri ile her iki hücre hattına karşı güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır (Manojlović et al., 2012).

Cladonia furcata ve *C. rangiformis*'dan elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimlerini ve antimikrobiyal aktivitelerini incelediği Kahrıman et al. (2012), tarafından yapılan çalışmada *C. rangiformis* ve *C. furcata* uçucu yağlarının inhibitör etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak yedi bakteri türüne karşı test edilmiş ve *C. rangiformis* yağının *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*'a (MIC=306,2 mg/mL, her biri) karşı antimikrobiyal ve antifungal aktiviteye sahip olduğu, *C. furcata* yağının ise patojenik bir maya olan *C. albicans*'a karşı antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur.

Umbilicaria cylindrica'nın metanol ve kloroform ekstralarının fitokimyasal analizi HPLC-UV yöntemi ile belirlenmiştir. Her iki ekstradaki baskın fenolik bileşiğin depsidon ve salazinik asit olduğu saptanmıştır. Liken ekstralarının, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* ve *Aspergillus niger*'e karşı 15,62 ila 62,50 µg/mL arasında değişen MIC değerleri ile önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir (Manojlović et al., 2012).

Lecanora atra, *Lecanora muralis*, *Parmelia saxatilis*, *Parmelia sulcata* ve *Parmeliopsis ambigua*'nın aseton, metanol ve su ekstraları *in vitro* koşullarda 6 bakteri ve 10 mantar türüne karşı antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek üzere araştırılmıştır ve likenlerinin su ekstralarının test edilen mikroorganizmalarının hiçbirine karşı antimikrobiyal aktivite

göstermezken, aseton ve metanol ekstralarının test edilen türler üzerinde etkili olduğu bulunmuştur (Ranković & Kosanić, 2012).

İki liken türünden (*Cladonia foliacea* ve *Flavoparmelia caperata*) hazırlanan 4 farklı konsantrasyondaki ekstraların, tahıl biti *Sitophilus granarius* üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar *C. foliacea* ve *F. caperata* ekstralarının *S. granarius* yetişkinleri üzerinde kontrole kıyasla böcek öldürücü etkiye sahip olduğunu ve insekdisidal etkinin ekstrenin konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak değişebildiğinin saptamışlardır (Emsen et al., 2012).

Bir başka çalışmada; (+)- usnik asit, atranorin, 3-hidroksifisodik asit ve jiroforik asidin, sivrisinek *Culiseta longiareolata*'nın ikinci ve üçüncü instar larvalarına karşı larvisidal aktivitesinin incelendiği çalışmada tüm metabolitlerin yüksek larvisidal aktivitelere sahip olduğu bulunmuştur (Çetin et al., 2012).

Chauhan & Abraham (2013), *Parmotrema* sp.'nin metanol ve su ekstralarının antibiyotik özellikleri, sekiz bakteri (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Enterococci faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) ve beş bitki patojenik fungus (*Aspergillus terreus*, *Scedosporium* sp., *Ganoderma* sp., *Candida tropicalis* ve *Fusarium* sp.) suşuna karşı Kirby-Bauer metodu kullanılarak araştırmışlardır. *Parmotrema* sp.'nin metanol ekstresinin, tüm test edilen organizmaların gelişimini inhibe etmesine karşın, en yüksek antibakteriyel aktivite *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı bulunmuştur. En güçlü antifungal etkinin ise *Ganoderma* sp ve *Fusarium* sp. üzerinde gözleendiği bulunmuştur. *Parmotrema* sp.'nin su ekstresinin herhangi bir antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olmadığı bulunmuştur.

Ramalina roesleri'nin farklı ekstralarının antimikrobiyal ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmada, hekzan ekstresi *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus mutans* üzerinde çok aktif bulunmuştur (Sisodia et al., 2013).

2013 yılında yapılan bir çalışmada, toprak likenleri *Cladonia rangiformis* ve *Cladonia convoluta* antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri yönünden, maya *Candida albicans*, Gram-negatif bakteriler (*Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) ve Gram-pozitif bakteriler (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) üzerinde metanol ve kloroform ekstralarının *in vitro* antimikrobiyal aktiviteleri, kâğıt disk yöntemi (MIC_s) kullanılarak incelenmiştir. Veriler, likenlerin kloroform ekstralarının, metanol ekstralarından daha önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir (Açıkgöz et al., 2013).

Bir başka çalışmada, *Evernia prunastri* ve *Pseudevernia furfuracea*'nin aseton ekstralarının kimyasal kompozisyonu, *in vitro* antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerini ve bazı ana metabolitlerini incelemiştir. Çalışma sonucunda fisodik asidin en büyük antioksidan aktiviteye sahip sekonder metabolit olduğu *P. furfuraceae*'den elde edilen ekstraların ise orta derecede antibakteriyel ve antifungal aktiviteye sahip olduğunu açıklamışlardır (Kosanić et al., 2013).

Kuzey Amerika bölgesinden toplanan 34 liken türünden elde edilen ekstraların antibiyotik özelliklerinin araştırıldığı çalışmada, aseton ve metanol ekstralarının dört patojenik bakteri üzerinde MIC değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Liken ekstralarının çoğunun, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve metisiline dirençli *S. aureus*'a karşı inhibitör etkiler göstermiş olduğu saptanmış, genel olarak, aseton ekstralarının metanol ekstralarından daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Shrestha et al., 2014).

Tıbbi bir liken türü olan *Usnea barbata*'nın mastitisli ineklerin çiğ sütünden izole edilen on üç farklı *Staphylococcus* türlerine karşı antimikrobiyal potansiyeli incelenmiştir. Hem metanol hem de etil asetat ekstralarının, *Staphylococcus* türlerine karşı ortalama inhibisyon bölgeleri çapında 0-4 mm arasında değişen antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Idamokora et al., 2014).

Platismatia glauca ve *Pseudevernia furfuracea* liken türlerinin aseton, etil asetat ve metanol ekstralarının antioksidatif, antimikrobiyal ve antibiyofilm potansiyelleri

açısından değerlendirildiği, Mitrović et al. (2014), tarafından gerçekleştirilen bir araştırmada; *P. glauca*'daki dominant bileşikler olarak kaperatik asit, atrarik asit, atranorin ve kloroatranorin belirlenmiştir. Atrarik asit, olitorik asit, atranorin ve kloroatranorin ise *P. furfuracea*'nın ana bileşenleri olarak tespit edilmiştir. *P. glauca*'nın aseton ve etil asetat ekstresininin, *Staphylococcus aureus* ve *Proteus mirabilis* üzerinde, *P. furfuracea*'nın metanol ekstresininin ise, diğer ekstrelelere kıyasla *S. aureus* üzerinde daha etkili olduğu açıklanmıştır.

Cetraria islandica'nın metanol ekstresininin antioksidan, antimikrobiyal, genotoksik ve antikanser aktiviteleri, beş bakteri (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*) ve beş mantar türü (*Aspergillus flavus*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium purpurescens* ve *Trichoderma harzianum*) üzerinde test edilmiştir. Test edilen ekstrelerin belirli bir düzeyde *in vitro* koşullarda antioksidan, antimikrobiyal, genotoksik ve antikanser aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Grujić et al., 2014).

Lecanora muralis, *Parmelia saxatilis*, *Parmeliopsis ambigua*, *Umbilicaria crustulosa* ve *Umbilicaria polyphylla* metanol ekstrelerininin *Bacillus mycoides*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Candida albicans*, *Mucor mucedo* ve *Penicillium verrucosum* üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Kosanić et al., 2014).

Stereocaulon paschale metanol ekstresininin beş bakteri türü ve beş mantar türü üzerindeki antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktivitelerini, serbest radikal ve süperoksit anyon temizleme aktivitesini, indirgeme gücünü, toplam fenolik bileşikleri ve toplam flavonoit içeriği ile MIC değerleri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda *S. paschale*'nin metanol ekstresininin her iki hücre hattına karşı güçlü bir antikanser aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Ranković et al., 2014).

Hindistan'da yaygın olarak bulunan liken türü olan *Parmelia erumpens*'in kloroform ekstresinde atranorin, (+) - usnik asit ve 2-hidroksi-4-metoksi-3,6-dimetilbenzoik asit

olmak üzere üç ana bileşik saptanmıştır. En etkili MIC değeri 2-hidroksi-4-metoksi-3,6-dimetilbenzoik asit ile *Vibrio cholera*'ya karşı bulunmuştur (Aravind et al., 2014).

Ürdün'de çeşitli coğrafi bölgelerden toplanan üç liken türü (*Xanthoria parietina*, *Physconia* sp. ve *Tornabenia atlantica*), fitokimyasal ve antimikrobiyal özelliklerini test etmek amacıyla incelenmiştir. Bu çalışmada potansiyel antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için seçilen bakteri türleri; *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus lentus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aeruginosa* ve *Serratia marcescens*'dir. Üç likenin metanol ekstralarının, su ekstralarına göre daha aktif olduğu bulunmuştur. Ayrıca liken ekstralarının Gram-pozitif bakteriler üzerinde Gram-negatif bakterilerden daha etkili olduğu belirtilmiştir (Abuiraq et al., 2015).

Cladonia uncialis'in çeşitli çözümlerle hazırlanan ekstralarının antimikrobiyal etkileri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerinde incelenmiştir. Me₂CO ekstresinin *S. aureus*'a karşı yüksek etkili olmasına karşın skuamatik asidin etkisiz olduğu kanıtlanmış, ayrıca *C. uncialis* ekstralarının *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı hiçbir aktivite göstermediği belirtilmiştir (Stundzińska-Sroka et al., 2015).

Ramalina farinacea, *R. fastigiata* and *R. fraxinea*'nın evernik, fumarprotosetrarik asit, lekanorik, stiktik ve usnik asit seviyelerini HPLC yöntemi ile belirlemişler ve *Ramalina* türlerinin metanol ekstralarının en yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Metanol ekstralarının *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve 8 FQ-resistant *E. coli* üzerinde 64 -512 µg/mL arasında değişen antimikrobiyal değerler tespit etmişlerdir (Şahin et al., 2015).

Bir başka çalışmada da, *Parmotrema perlatum*'un çeşitli bakteri (*Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp. ve *Bacillus subtilis*) ve fungal patojenlere (*Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* ve *Aspergillus fumigatus*) karşı antimikrobiyal etkinliği araştırılmıştır. *P. perlatum*'un hekzan ekstresinin, test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü bir inhibitör etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ekstrenin,

antifungal aktiviteye kıyasla önemli ölçüde yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Hoda & Vijayaraghavan, 2015).

Xanthoria parietina aseton ekstresinin ve başlıca ikincil sekonder metaboliti olan parietinin antiproliferatif, antibakteriyel ve antifungal aktivitesi Basile et al. (2015), tarafından araştırılmıştır. Ekstre ve parietinin etkisi, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloaca*, *Klebsiella pneumoniae* ve üç fungus suşunda (*Candida albicans*, *Botrytis cinerea* ve *Rhizoctonia solani*) incelenmiştir. Her ikisinin de, özellikle *Staphylococcus aureus* üzerinde güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Ekstrenin insan meme kanseri hücrelerinde, proliferasyonu inhibe ettiği de vurgulanmıştır.

Melanohalea exasperata, *Physcia aipolia*, *Usnea florida*, *U. subfloridana* ve *Xanthoria parietin*'nin metanol ve kloroform ekstrelerinin iki Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli*) ile iki Gram pozitif bakteri (*Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus*) ve bir maya türüne (*Candida albicans*) karşı etkilerinin incelendiği çalışmada MIC değerleri belirlenmiştir. *U. subfloridana*'nın kloroform ekstresi *E.coli* ve *P. auruginosa* 'ya karşı en yüksek etkiyi gösterirken liken türlerinin metanol ekstresinin bu mikroorganizmalara karşı etki göstermediği belirlenmiştir. İncelenen türlerin kloroform ekstrelerinin, metanol ekstrelerinden daha önemli ölçüde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir (Çobanoğlu et al., 2016).

Lasallia pustulata'nın metanol ekstresinin genotoksik, antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser etkinliğinin araştırıldığı çalışmada metanol ekstresinin orta derecede serbest radikal temizleme etkisinin olduğu ortaya konulmuştur. Ek olarak, test edilen ekstrenin iki hücre hattına karşı 46,67 ve 71,71 µg/L IC50 değerleri ile güçlü antikanser aktivitesinin olduğu vurgulanmıştır (Kosanić et al., 2016).

Usnea intermedia, *U. filipendula* ve *U. fulvorangea*'nın aseton, etanol ve metanol ekstrelerinin antioksidan aktivite ve toplam fenolik içeriklerini inceledikleri çalışmada,

Escherichia coli'nin üç *Usnea* türünün metanol ekstresine duyarlı olduğu tespit edilmiştir (Oran et al., 2016).

Melanelia subaurifera ve *Melanelia fuliginosa*'nın antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, fitokimyasal analiz, HPLC-UV yöntemi, antioksidan aktivite, DPPH ve indirgeme gücü testi, antimikrobiyal aktivite ise MIC ile belirlenmiştir. Liken ekstrelerinin antioksidan aktivitesi (IC₅₀), 121,52 ila 424,51 g/ml arasında değişmiştir. 2'-*O*-metil anziaik asit, 0,0625 ila 1 mg/ml arasında değişen MIC ile en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir (Ristić et al., 2016a).

Ristić et al. (2016b), *Ramalina fraxinea* ve *Ramalina fastigiata* türlerinin aseton ekstrelerinin fitokimyasal analizini ve bu ekstrelerin bileşenlerinin antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör aktivitelerini incelemiştir. Bu likenlerde depsidler (evernik asit, obtusatik asit, sekikaik asit ve atranorin), depsidonlar (protosetrarik asit) ve dibenzofuran (usnik asit) tanımlamışlardır. Antimikrobiyal aktivite, beş bakteri ve 10 mantar türü üzerinde MIC değerleri belirlenerek test edilmiştir. Çalışmanın sonucunda, test edilen numunelerin 285,45-423,51 µg/mL aralığında IC₅₀ değerleri ile güçlü serbest radikal süpürücü aktivite gösterdiği, *R. fraxinea* ve *R. fastigiata* ekstrelerinin toplam fenol konsantrasyonları sırasıyla 32,63 ve 33,49 µg PE/mg olduğu açıklanmıştır. Tüm numunelerin test edilen epitelyal karsinom, insan akciğer karsinom ve insan kolon karsinom hücrelerine karşı güçlü antikanser etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (IC₅₀ değerleri 24,63 ile 161,37 µg/mL).

Kaynak bilgileri, geleneksel olarak yirtıcıları zehirlenmek ve mide rahatsızlıklarını tedavi etmek için kullanılan *Letharia vulpina*'nın umut verici antimikrobiyal özellikler taşıdığını göstermiştir. Bu çalışmada, aseton ekstresinin metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'a (MRSA) karşı etki şekli araştırılmıştır. Veriler, *L. vulpina* ekstresinin MRSA izolatının membran yapısını ve hücre bölünme süreçlerini bozduğunu göstermiştir (Shrestha et al., 2016).

Usnea rubrotincta, *Ramalina dumeticola* ve *Cladonia verticillata*'nın ekstreleri ve kimyasal bileşenleri antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri değerlendirmek için

araştırılmış ve *U. rubrotincta*'nın aseton ekstresinin, en düşük MIC değeri (15,63 µg/mL) ile gram pozitif bakterilerden *Bacillus subtilis*'e karşı önemli ölçüde antibakteriyel aktivite gösterdiği açıklanmıştır. Bu iki liken türünden altı sekonder metabolit HPLC yöntemi ile izole edildiği belirtilmiştir. Bunlar arasında usnik asidin Gram (+) bakteriler üzerinde güçlü aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Gunasekaran et al., 2016).

Ülkemizde, *Bryoria capillaris*'in kloroform, metanol ve aseton ekstraktları ile barbatolik asit gram pozitif, gram negatif ve filamentli funguslara karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak antifungal ve antibakteriyel etkinliği için araştırılmıştır. Liken ekstraktlarının test edilen patojenik mikroorganizmalara karşı dikkate değer etki gösterdiği ve barbatolik asidin, 31,25 µg/ml MIC değeri ile enfeksiyöz patojen olan *Mycobacterium tuberculosis*'un gelişimini önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (Sarıözlü et al., 2016).

Cetrelia olivetorum'un metanol ekstresi (MECO) ile yapılan çalışmada, test edilen mikroorganizmalara karşı MIC değeri 50-104 mg/mL aralığında tespit edilmiş ve piyasada bulunan standart eritromisinden daha etkili olduğu bulunmuştur (Savale et al., 2016).

Bir çalışmada, *Usnea steineri*'nin aseton ekstresinin fitokimyasal çalışması ile ana bileşikler olarak difraktaik asit ve (+)- usnik asit izole edilmiştir. Aseton ekstresi *Staphylococcus epidermidis* ve *Enterococcus faecalis*'in dirençli suşlarına karşı güçlü aktivite (10 µg/mL'den az) gösterirken (+)- usnik asit, *S. epidermidis* (MIC 3,12 µg/mL), *S. aureus* ve *S. haemolyticus*'a (MIC 12,5 µg/mL) karşı aynı şekilde güçlü bir antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir (Tozatti et al., 2016).

Likenlerde en çok çalışılan biyoaktif sekonder metabolitlerden usnik asidin (UA) antibakteriyel aktivitesinin araştırıldığı çalışmada Ren geyiği likeninin (*Cladonia stellaris*) etanol ve aseton ekstraktlarının Gram-pozitif (*Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*) bakterilere karşı antibakteriyel duyarlılık gösterirken, Gram-negatif bakterilere (*Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*) karşı çok az etkili olduğu veya hiç aktivite göstermediği tespit edilmiştir (Ahmad et al., 2017).

Candida albicans, insan mide-bağırsak sistemi patojenidir. 38 liken türünün aseton ekstresinin *C. albicans* üzerindeki etkilerini belirlemek için yapılan araştırmada *Evernia prunastri* ve *Ramalina fastigiata*'nın en umut verici liken türleri olduğu saptanmıştır (Millot et al., 2017).

Caloplaca pusilla, *Protoparmeliopsis muralis* ve *Xanthoria parietina*'nın aseton ekstrelerinin antibakteriyel ve antiproliferatif etkinliğinin araştırıldığı çalışmada *P. muralis*'in, Gram pozitif bakteriler; *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'in gelişimini güçlü bir şekilde engellediği belirtilmiştir (Felczykowska et al., 2017).

Ramalina capitata aseton ekstresinin insan lenfositleri üzerindeki mikronükleus dağılımı, kolinesteraz aktivitesi ve antioksidan aktivite üzerindeki etkileri ve HPLC profilinin ilk kez incelendiği çalışmada, ekstrelerdeki baskın fenolik bileşiklerin, evernik ve obtusatik asit olduğu tespit edilmiştir. Aseton ekstresinin Gram pozitif bakterilere (*Bacillus spizizenii* ve *Staphylococcus aureus*) karşı büyük bir inhibisyon etkisine sahip olduğu ve Gram negatif bakteriler (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella abony*) üzerinde ise hiçbir etkisinin olmadığı gösterilmiştir (Zrnzević et al., 2017).

Likenlerdeki biyoaktif bileşenlerin üretimi çevresel strese tepki olarak değişebilmekte bu da aynı türün farklı lokalitelerdeki örneklerinin antimikrobiyal etkileri karşılaştırılarak değerlendirilebilmektedir. Türkiye'deki farklı bölgelerden toplanan *Hypogymnia tubulosa*'nın kloroform-metanol-aseton ekstrelerinin etkileri *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* üzerinde incelenmiştir. Test edilen *H. tubulosa* ekstrelerinin çoğunun, *S. aureus* ve *E. faecalis*'e karşı antibiyotik kadar güçlü inhibitör etkiler gösterdiği ve etkinin bölgeye, habitat ve ekstre değişkenlerine bağlı olarak farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir (Özyiğitoğlu et al., 2017).

Jha et al. (2017), tarafından Nepal'de 84 liken taksonunun metanol-su ekstresi, heksan, diklorometan ve metanol bölümlerine ayrıldıktan sonra antimikrobiyal aktiviteleri bakımından araştırılmıştır. 17 liken türünün DCM fraksiyonu, gram pozitif bakteriye (*Staphylococcus aureus*) karşı potansiyel antimikrobiyal aktivite gösterdiği ve 45 likenin

DCM fraksiyonları, gram negatif bakteriye (*Klebsiella pneumoniae*) karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir. Üç likenin DCM fraksiyonlarının, *Candida albicans* mayasına karşı antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir.

Usnea florida'nın metanol, aseton ve kloroform ekstralarının antibakteriyel, antifungal ve antitüberküloz etkilerinin araştırıldığı çalışmada 13 bakteri, 4 maya ve 8 fungus türüne karşı disk difüzyon metodu kullanılarak MIC değerleri tespit edilmiştir. Bakteri ve mayalara güçlü aktivite belirlenmiş iken fungus türlerine karşı güçlü bir etki gözlenmediği açıklanmıştır (Cankılıç et al., 2017).

Physcia aipolia'nın petrol eter (EEP), aseton (EA) ve metanol (EM) gibi farklı polariteye sahip çözücüler ile hazırlanan ekstralarının, patatesde en büyük zararlı olarak bilinen *Tecia solanivara*'nın larvalarına karşı olası insektisit etkisinin araştırıldığı çalışmada ekstraların uygulanmasından 24 saat sonra larva ölümlerinin kaydedildiği rapor edilmiştir (Pérez et al., 2017).

Cladonia aff. rappi'nin antifungal etkilerinin değerlendirildiği su, etanol ve diklorometan ekstraları kullanılarak beş maya, dört *Candida* cinsi ve bir *Cryptococcus*'a karşı MIC ve MFC değerleri belirlendiği çalışmada, en iyi antifungal aktivitenin *Candida albicans*'a karşı 20 mg/mL'lik etanol ekstresinde gözlendiği açıklanmıştır. Su ekstraları ile bir etki gözlenmediği belirtilmiştir (Plaza et al., 2017).

Çoklu ilaca dirençli patojenik mikroorganizmaların ortaya çıkması nedeniyle, yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması, mevcut tıbbi kimya araştırmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Liken antimikrobiyal ksantonlardan esinlenerek, Resende et al. (2018) tarafından ksanton iskelesinde farklı ikame modelleri elde etmek için beş klorlama yöntemi kullanılarak bir dizi yeni klorlu ksanton hazırlanmıştır. Sentezlenen tüm bileşiklerin, antimikrobiyal aktiviteleri (Gram-pozitif suşlar *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* Gram-negatif suşlar *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*, antifungal aktivite için *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ve dermofit klinik suşlar *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis* ve *Epidermophyton floccosum*) değerlendirilmiştir. Bunlar arasında 3-kloro-4,6-dimetoksi-1-metil-9H-ksanten-9-1'in *E.*

faecalis ve *S. aureus*'e karşı umut verici antibakteriyel aktivite gösterdiği 2,7- Dikloro-3,4,6-trimetoksi-1-metil-9*H*-ksanten-9-1, dermatofit klinik suşuna (*T. rubrum*, *M. canis* ve *E. floccosum* (MIC= 4–8 µg/mL) karşı güçlü bir fungistatik ve fungisidal aktivite tespit edildiği rapor edilmiştir.

Cladonia cinsine ait beş liken türünün (*C. fimbriata*, *C. furcata*, *C. subulata*, *C. foliacea* ve *C. rangiferina*) aseton ekstralarının kimyasal bileşimini ile antioksidan, antimikrobiyal ve antitümör etkilerinin araştırıldığı çalışmada antioksidan aktivite açısından *C. furcata*'nın en etkili tür olduğu tespit edilmiştir. *C. fimbriata* ekstresi en güçlü antibakteriyel aktivite gösterirken (0,625 ila 20 mg/mL arasında değişen MIC değerleri), *C. subulata* ekstresinin en güçlü antifungal aktiviteyi gösterdiği belirtilmiştir. MTT yöntemi kullanılarak test edilen sitotoksik aktivitenin tüm örneklerde incelenen hücre hatlarına karşı güçlü antikanser aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır (Kosanić et al., 2018).

Himalaya bölgesinde yaygın olarak bulunan liken türlerinden *Bulbothrix setschwanensi*'in aseton, kloroform ve metanol ekstralarının 6 bakteri ve 7 fungus türüne karşı antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmada, aseton ekstresinin *Staphylococcus aureus* ve *Cryptococcus neoformans*'a (6,25 mg/mL) karşı umut verici seviyede etki gösterdiği, özellikle aseton ekstresinin *S. aureus* ve *C. neoformans* hücrelerine zarar verdiğinin elektron mikroskobu ile açıkça görüntülediği belirtilmiştir. Bunların dışında, bu 3 liken türüne ait ekstraların MIC konsantrasyonlarda memeli hücrelerinde daha az sitotoksik etki gösterdiği vurgulanmıştır (Maurya et al., 2018).

Bryoria capillaris ekstresinin insan ve bitkilerde patojen bakteriler *Pantoea ananatis*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteridis*, *Enterococcus faecalis*'e karşı etkinliği test edilmiş ve çalışmada pozitif kontrol olarak kanamisin ve tetrasiklin kullanılmıştır. Ana maddeler olarak, sıvı ortam ve mikrodilüsyon testlerinde güçlü antimikrobiyal aktiviteye sahip, disk difüzyon testlerinde ise antimikrobiyal aktiviteye sahip olmayan veya ihmal edilebilir antimikrobiyal aktiviteye sahip barbatolik asit ve alektoriyal asit içeren iki fraksiyon elde edildiği tespit edilmiştir (Karagöz et al., 2018).

Üç liken türünün (*Cetraria aculeata*, *Cladonia chlorophaea* ve *Cetrelia olivetorum*) metanol ekstralarının mutajenik ve anti-mutajenik etkilerinin *E. coli*-WP2, Ames-Salmonella (TA1535 ve TA1537) ve (SCE) kardeş kromatit değişimi test sistemleri kullanılarak araştırıldığı çalışmada *C. aculeata*, *C. chlorophaea* ve *C. olivetorum*'un kısmen antioksidan aktivitelerinin ve liken ekstralarının mutajen ajanlarla etkileşim kabiliyetinde olmasına dayandırıldığı görülmektedir (Çeker et al., 2018).

Pseudevernia furfuracea, *Physcia* türleri, *Dermatocarpon vellerum* ve *Parmelia* türlerinin ekstralarının üç klinik bakteri izolatu, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus epidermis* türlerine, karşı çeşitli agar disk ve difüzyon metodu kullanılarak, antimikrobiyal etkilerini belirlemek için araştırılmıştır. *P. furfuracea*, *Physia* türleri ve *D. vellerum*'un metanol ekstresinin, *S. epidermidis*'in gelişimini (14.3±1.7 mm, 12.3±2.0 mm ve 11.3±0.9 mm) önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. *Parmelia* spp'nin metanol ekstresinde *S. epidermidis*'e karşı orta düzeyde inhibisyon zonu gözlemlendiği, ayrıca farklı yoğunluklardaki dietil eter ekstralarının önemli antioksidan potansiyel aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Rehman et al., 2018).

Batı Himalayalar'da Uttarkand Gopeshwar'dan toplanan *Cladonia scabriuscula*'nın soğuk ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen %50 v/v etanolik ekstresinin *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Vibrio cholerae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella dysenteriae* gibi birçok insanın hayatını tehdit eden su kaynaklı bakteriyel patojenler üzerindeki bakterisidal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, ekstrenin *E. coli* ve *S. typhimurium*'a karşı sırasıyla 2,48 ve 1,02 mg/ml MIC değerleri ile antimikrobiyal etkili olduğu belirlenmiştir (Pandey et al., 2018).

Oh et al., (2018), tarafından 177 liken türünün aseton ekstresi ile 258 liken oluşturan mantarın etil asetat ekstralarının *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecium*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin incelendiği çalışmada; divarikatik asidin, *S. epidermidis* ve *E. faecium*'a karşı antibakteriyel aktivitesinin vankomisinden daha yüksek olduğu bulunmuş ve divarikatik asidin, *Candida albicans*'a karşı da aktif olduğu belirtilmiştir.

Dalsı formda bir liken türü olan *Rocella montagnei*'nin ana metaboliti olan (+) montagnetolün sentezlenen 3 bileşiminin, gram pozitif bakteriler, (*Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*) ve gram negatif bakteriler, (*Salmonella typhi* ve *Pseudomonas aeruginosa*) ve bir mantar türü olan *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkisi *in vitro* koşullarda denenmiştir. Ekstrelerden birinin *P. aeruginosa* üzerinde antibakteriyel aktivite oluşturduğu, diğerinin ise *C. albicans*'a karşı güçlü antifungal özellik taşıdığı belirtilmiştir (Mallavadhani et al., 2018).

Plasmatia glauca'nın metanol ekstresinin bazı bakteri ve maya suşlarına karşı antimikrobiyal özelliklerinin değerlendirildiği çalışmada disk difüzyon testi, MIC, MBC ve MFC testleri uygulanmıştır. Test edilen tüm mikroorganizmalar değişen derecelerde duyarlılık göstermiştir. Bu suşlar arasında, disk difüzyon testlerinde en duyarlı bakterinin *Staphylococcus saprophyticus* olduğu, ardından sırasıyla *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli*'nin yer aldığı açıklanmıştır. Ayrıca *Candida albicans*'a karşı da yüksek antifungal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Abdallah, 2019).

Antartika'da yayılış gösteren likenlerden *Usnea antarctica* ve *Usnea aurantiaco-atra*'dan hazırlanan metanol-aseton özütünün (MAE) *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Vibrio alginolyticus* üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada ekstrenin sadece *S. aureus*'a karşı etkili olduğu saptanmıştır (Londone-Bailon et al., 2019).

Cetraria islandica'dan usnik asit ayrıştırmak, ekstrelerin antioksidan ve antimikrobiyal potansiyellerinin değerlendirilmesinin amaçlandığı çalışmada da ekstreler FTIR spektroskopisi ve HPTLC teknikleri kullanılarak tanımlanmıştır. Ekstrelerin ve usnik asidin yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, bazı gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile *Candida albicans* gibi mantarlara karşı antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Patriche et al., 2019).

13 liken türünün balık patojeni 6 bakteri üzerindeki etkilerini değerlendikleri çalışmada aseton, metanol ve su ekstreleri karşılaştırılmıştır. Liken türlerinin çoğunun, *Aeromonas*

hydrophila, *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus faecalis* ve *Lactococcus garvieae*'ye karşı antibakteriyel etkiye sahip olduklarını gözlemişlerdir. Bununla birlikte, *A. salmonicida* ve *Y. ruckeri* üzerinde likenlerin engelleyici bir etki oluşturmadıklarını saptamışlardır. Genel olarak, aseton ekstralarının metanol ve su ekstralarına göre daha etkili olduğu belirtilmiştir (Taş et al., 2019).

Usnea barbata likeninin biyolojik olarak aktif metabolitlerinin araştırıldığı çalışmada çeşitli solvent sistemleri kullanılarak usnik asit ve diğer fitobiyobiyokimyasallar için ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Liken ekstralarının *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas fluorescens* bakterilerine karşı antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal özellikleri incelenmiştir (Susanti et al., 2019).

Evernia prunastri, *Ramalina farinacea* ve *Pseudevernia furfuracea* aseton ekstralarının kimyasal bileşimi ve sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinin araştırıldığı bir başka çalışmada; fitokimyasal analiz, HPLC-UV ile gerçekleştirilmiştir. Sitotoksik etki, insan prostat kanseri, insan kolon karsinoması, insan hepatoselüler karsinoması ve Hamster yumurtalık kanseri hücre hatları üzerinde WST1 testi ile değerlendirilmiştir. Ekstrelerin hücre hatları üzerinde önemli sitotoksik etki oluşturmadığı ve *P. furfuracea* ekstresinin, en yüksek serbest radikal süpürme yeteneğinde ve güçlü antibakteriyel özellikte olduğu saptanmıştır (Aoussar et al., 2020).

Endonezya'da yapraksız liken *Parmelia cetrata*'nın kapsamlı bir fitokimyasal çalışması, Nugraha et al (2020), tarafından yapılmıştır. 13 fenol ve depsid türevi izole edilmiştir. İzole edilen bileşiklerin anti-infektif aktivitesi, gram negatif bakteri *Aliivibrio fischeri* ve nematod *Caenorhabditis elegans* üzerinde incelenmiştir. 2,4-Dihidroksil-6-pentilbenzoat ve lekanorik asidin, *A. fischeri*'nin gelişimini engellediğini, ayrıca lekanorik asidin, 100 µg/mL'de *C. elegans*'in %80 ölümüne neden olduğu açıklanmıştır

İki yaygın epifit liken *Usnea florida* ve *Flavoparmelia caperata* aseton ekstresinin, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Aspergillus brasiliensis*'e karşı antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı çalışmada (+)-usnik asidin bu iki türde de ana metabolit olduğu ortaya konmuştur. *U. florida*'dan thamnolik, evernik, fisodik ve 3-

hidroksifisodik asitler ve 5,7-dihidroksi-6-metilftalit izole edilmiştir. Protosetrarik ve kaperatik asitler ve ergosterol peroksidin genellikle *F. caperata*' da sentezlendiği, dört ana bileşiğin *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Amandine et al., 2020).

Doğal ürünler, artan dirence karşı koymak ve yaygın dirençli bakteri fenotiplerinin ortaya çıkmasını önlemek için umut verici yeni etkili antimikrobiyal kaynaklar olmaya devam etmektedir. Likenlerin önemli antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir. Bu amaçla Kamerun Dağı'nda yayılış gösteren *Usnea articulata*, *Usnea florida*, *Leptogium gelatinoum*, *Physcia parietina*, *Ramalina sinensis* ve *Xantho parmeliaplitti* antibakteriyel özellikleri bakımından araştırılmıştır. Likenlerin metanol ekstrelerinden, üç tanesinin, gentamisin pozitif kontrolüne benzer şekilde (P=0,1018-0,6699), orta ve yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu ve *U. articulata* ve *U. florida*'nın etkili olan türler olduğu belirtilmiştir (Bate et al., 2020).

Antibakteriyel dirençli bakteriler, deri üzerindeki yıkıcı özellikleri nedeniyle deri ıslatma işleminde önemli bir problemdir. Likenler bu direnç sorununun üstesinden gelmek için bir çözüm olabilir. *Hypogymnia tubulosa*, *H. physodes*, *Evernia divaricata*, *Pseudevernia furfuracea*, *Parmelia sulcata* ve *Usnea* türlerinin aseton ekstrelerinin *Enterococcus durans* üzerindeki olası antibakteriyel etkisi incelenmiştir. *H. tubulosa*, *H. physodes*, *E. divaricata* ve *P. furfuracea* ekstrelerinin antibakteriyel etki göstermesine karşın *P. sulcata*'nın antibakteriyel etki göstermediği saptanmıştır. En etkili likenin *Usnea* sp. olduğu belirlenmiştir (Berber et al., 2020).

Dieu et al. (2020), tarafından, iki yaygın epifit liken türü *Usnea florida* ve *Flavoparmelia caperata*'nın aseton ekstreleri, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Aspergillus brasiliensis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteleri açısından incelenmiştir. Dibenzofuran türevi (+)-usnik asidin, bu iki türdeki ana metabolit olduğu *U. florida*'dan thamnolik, evernik, fisikodik ve 3-hidroksifisodik asitler ile bu çalışmada yeni tanımlanan 5,7-dihidroksi-6-metilftalid izole edildiği görülmektedir.

Hypogymnia physodes, *Evernia divaricata*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Usnea* sp.'nin aseton ekstraları antibakteriyel etkilerini belirlemek amacı ile farklı konsantrasyonlarda Gram pozitif izolatlar (*Bacillus toyonensis*, *B. mojavensis*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. velezensis*, *B. cereus* ve *B. licheniformis*) üzerinde test edilmiştir. *Evernia divaricata*'nın aseton ekstresi, sırasıyla 240, 120, 60 ve 30 µg/ml konsantrasyonlarında *B. toyonensis*, *B. mojavensis*, *B. amyloliquefaciens* ve *B. subtilis*'i tamamen engellerken, *P. furfuracea*'nın aseton ekstraları, sadece 240 µg/ml konsantrasyonda çoğu türün büyümesi üzerinde büyük bir inhibitör etkiye sahip olduğu açıklanmıştır. *H. physodes* aseton ekstralarının, *B. amyloliquefaciens*'i tamamen engellediği, test edilen diğer bakterilerin büyümesi üzerinde oldukça yüksek baskılayıcı etkiye sahip olduğu ve *Usnea* sp. aseton ekstralarının, 30 µg/ml konsantrasyonda bile *Bacillus* türleri üzerinde inhibitör etki gösterdiği saptanmıştır (Berber, 2020).

Umbilicaria muhlenbergii farmasötik olarak antikanser ve antibiyotik liken kimyasallarının potansiyel bir kaynağıdır. *Umbilicaria muhlenbergii*'nin aseton ekstresinin, pozitif kontrolüne kıyasla meme kanseri hücrelerinde sitotoksik aktivite oluşturduğu ve ham ekstrenin gram pozitif bakteri *Staphylococcus aureus*'a karşı antibiyotik aktiviteye sahip olduğu, belirlenmiştir (Letwin et al., 2020).

Bir başka araştırmada *Diploschistes ocellatus*, *Flavoparmelia caperata*, *Squamarina cartilaginea* ve *Xanthoria parietina*'dan hazırlanan metanol, aseton ekstralarının antimikrobiyal, lizozim ve antifungal etkileri araştırılmıştır. İncelenen ekstraların Gram-pozitif, Gram-negatif bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve test edilen mantarların spor çimlenmesini engellediği gösterilmiştir (Mendili et al., 2021).

Belihuloya, Sri Lanka'dan toplanan iki liken türü *Parmotrema rampoddense* ve *Parmotrema tinctorum*'un hekzan, etanol ve su ekstralarının kimyasal bileşimi ve antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı çalışma Shiromi et al. (2021), tarafından yapılmıştır. Her iki likenin hekzan, etanol ve su ekstraları, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) dahil olmak üzere Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı disk difüzyon yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Liken

ekstrelerinin hiçbirisi Gram negatif bakterilere karşı aktif bulunmazken, her iki liken de metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ve MRSA'ya karşı konsantrasyona bağlı bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Usnea longissima türü, bitki ve insan patojenleri için antimikrobiyal, antifungal ve inhibitör etkiler gibi sayısız biyolojik aktivitelere sahip dalsı bir likendir. *U. longissimi*'nin çeşitli çözücülerle hazırlanan ekstreleri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Fusarium oxysporum* üzerindeki antimikrobiyal özellikleri için araştırılmıştır. Maksimum inhibisyon *E.coli* ve *S. aureus* için metanol ekstresinde, *F. oxysporium* için etanol ekstresinde ve *P. aeruginosa* için etil asetatta gözlemlendiği belirtilmiştir (Yadav et al., 2021).

Ermenistan'dan örneklenen kortikol likenlerin metanol, etanol, aseton ve su ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik aktivitelerini araştırmışlardır. Test edilen tüm likenlerin metanol, etanol ve aseton ekstreleri, Gram pozitif bakteri suşlarına karşı aktif bulunurken, likenlerin su ekstrelerinin ise, önemli bir antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olmadığını açıklamışlardır. En yüksek antimikrobiyal aktivite, *Ramalina sinensis*'in metanol ekstresi üzerinde gözlenmiştir. *Parmelia sulcata*'nın metanol ekstrelerinin, en büyük DPPH radikal süpürme aktivitesi gösterdiği HeLa hücre hattında *Peltigera praetextata*, *Evernia prunastri*, *R.sinensis* ve *Ramalina farinacea* türlerinin metanol ekstrelerinin sitotoksik olmadığı sonucuna varılmıştır (Sargsyan et al., 2021).

Bangi, Selangor, Malezya bölgesinden toplanan liken *Parmotrema praesorediosum* ekstresinin saf bileşikleri antimikrobiyal aktivite ve LCMS verilerinin karşılaştırılması amacıyla araştırılmıştır. Aseton, etanol ve metanol ekstrelerinin antimikrobiyal aktivitesi ile metanol ekstresinin metil divarikatinat, metil hematomat, metil klorohematomat, metil beta-orselinat ve vinapraesorediosik asit olmak üzere beş bileşiği bakteriler ve mantarlar üzerinde değerlendirilmiştir. Aseton ekstresinin, Gram pozitif bakterilerden, *S. aureus*'un *C. albicans* ve *C. parapsilosis*'in gelişimini engellediği tespit edilmiştir. Ayrıca, beş saf bileşiğin, bakteri ve maya gelişimini %50 oranında engelleyemediği açıklanmıştır (Azman et al., 2021).

Ceiba pentandra ve *Parmotrema perlatum* aroma olarak kullanımlarının yanı sıra, çeşitli terapötik aktiviteleri ile de bilinen liken türleridir. Fitokimyasal testler ve GC-MS yöntemini kullanarak *C. pentandra* ve *P. perlatum*'un metanol ve n-heksan ekstralarında bulunan fitokimyasal bileşenleri belirlenmiş, ardından siprofloksasilin kullanarak mikro titre broth seyreltme yöntemiyle beş dirençli mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkileri denenmiştir. *P. perlatum* ve *C. pentandra*'nın metanol ekstraları, n-heksan ekstresine göre önemli ölçüde antibakteriyel etki göstermiş ve sırasıyla 80 ve 320 µg/ml'de H37Rv dirençli mikobakteri suşuna karşı %90 büyüme inhibisyonu sergilemiştir. Her iki türün N-heksan özütlerinin H37 Rv'ye karşı zayıf etkili olduğu belirtilmiştir (Devi et al., 2021).

Liken metabolitlerinin, likenlerin zor yaşam koşullarına uyum sağlamasını kolaylaştırdığı bilinmektedir. Yaygın bir liken olan *Evernia prunastri* (L.) Ach.'nin antimikrobiyal ve antioksidan potansiyeli açısından araştırıldığı çalışmada *E. prunastri*'nin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri açısından (Hex), diklorometan (DCM) ve asetonitril (ACN) ekstraları hazırlanmış ve *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. DCM ve Hex özütlerinin her ikisinin de *S. aureus*'a karşı aktif olduğu ancak Gram-negatif bakterilere ve mayaya karşı daha düşük etkinlik gözlemlendiği ve ACN özütünün, hem *S. aureus* hem de *C. albicans* üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir (Shcherbakova et al., 2021).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Liken örneklerinin toplanması

Bu çalışmada incelenen *Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw., *Evernia prunastri* (L.) Ach. ve *Ramalina fraxinea* (L.) Ach. liken örnekleri Bursa il sınırları içinde daha önce yapılmış sistematik çalışmalarda yayılışlarının belirlendiği istasyonlardan toplanmıştır.

Araştırmada kullanılan liken materyalleri 18.05.2013-04.07.2013 tarihleri arasında Uludağ Hüseyinalan piknik alanı, Uludağ Milli Parkı ve Uludağ Oteller bölgesinde yer alan, lokalite bilgileri aşağıda verilmiş olan istasyonlardan toplanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Liken örneklerinin toplandığı lokaliteler

LİKEN TÜRÜ	TOPLANDIĞI LOKALİTE	TOPLANDIĞI TARİH
<i>Bryoria fuscencens</i> (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw.	Bursa: Osmangazi; Uludağ, Uludağ Milli Parkı, Kirazlıyayla, Maliye Tesisleri yanı, ormanlık alan, <i>Abies</i> sp., <i>Pinus</i> sp. 40° 06' 44,0'' K, 29° 05' 23,5'' D, 1516 m	26.05.2013 04.07.2013
<i>Evernia prunastri</i> (L.) Ach.	Bursa: Osmangazi; Uludağ; Hüseyinalan yol ayrımından sonra 2. km, meşelik alan, <i>Quercus</i> sp., 40° 07' 49,8'' K, 29° 01' 09,6'' D, 942 m	19.05.2013
<i>Ramalina fraxinea</i> (L.) Ach.	Bursa: Osmangazi; Uludağ; Oteller Bölgesi, Çobankaya piknik alanı, ormanlık alan, <i>Abies</i> sp., 40° 07' 08,9'' K, 29° 08' 28,8'' D, 1736 m	18.05.2013 19.05.2013

***Bryoria fuscescens* (Gyeln.) Brodo & D. Hawksw**

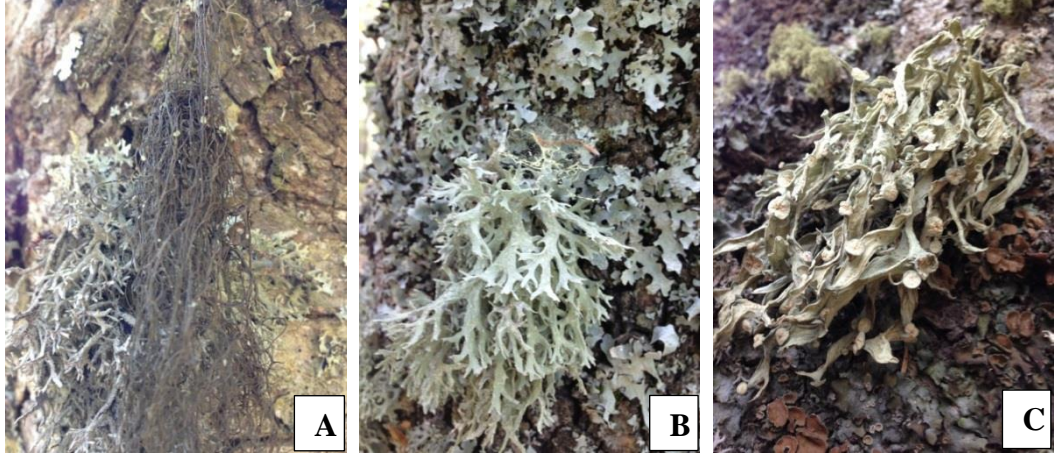
Tallus 5-15(-30-65) cm uzunluğunda, sarkık ya da yatık yapıda; dallar 0.5-(-0.8) mm çapında olup, taban ve uçlarda basık; dallanma düzensiz izotomik-dikotom şekilde; tallus rengi açıktan koyu kahverengiye kadar, nadiren siyahımsı renkte, taban kısmı daha açık renkli; pseudosifelsiz; soraller çok sayıda ya da seyrek, 0.75 mm çapında ve tuberkulat. Apotesyum nadir bulunur. Tallus P(+) kırmızı ya da P(-); medulla P(-); soral P(+) kırmızı, K(-), KC(-) ve C(-). *Betula* sp. gibi asit kabuklu, geniş yapraklı ağaçlar, silisli kayalar üzerinde, karayosunları arasında, duvarlar ve kereste üzerinde gelişim gösterir. İkincil metabolit: fumarprotosetrarik asit, atranorin (Smith et al., 2009; Wirth, 1995) (Şekil 3.1 A).

***Evernia prunastri* (L.) Ach.**

(1-)-2-6 cm çapındaki tallus yapraksı; loplar yumuşak belirgin olarak düz, şerit şeklinde ve dallanmış; tallusun üst yüzeyi yeşil-gri, yeşilimsi-sarı renkte; üst yüzey merkezden kenarlara doğru bir ağ oluşturacak şekilde oluklu yapıda; tallusun alt yüzeyi beyaz renkte ve geniş kanallı yapıda; üst yüzeyde soredler marginal ya da laminal yapıdadır. Apotesyum nadiren bulunur ve 0.2-0.5(-1.5) cm çapındadır. Askosporlar 7-11 x 4-6 µm boyutlarındadır. Korteks K(-); medulla K(-), P(-), C(-), KC(-). İkincil metabolit: evernik asit, atranorin, kloroatranorin, usnik asit, barbatik asit, lekanorik asit diverikatik asit (Smith et al., 2009; Wirth, 1995) (Şekil 3.1 B).

***Ramalina fraxinea* (L.) Ach.**

Tallus 20(-30) cm uzunlukta, dalsı olup geniş ve uzun şerit şeklinde; şeritler konveks veya düzdür. Dallar 3 mm genişlikte, yassı, seyrek dallanmış, düz ya da genellikle ± kanallıdır. Korteks genellikle ince ve beyaz pseudosifellidir. Apotesyumlar genellikle çok sayıda, marjinal ya da laminal; askosporlar 10-17 x 4-7 µm, renksiz ve bir hücreli, böbrek şeklindedir. Medulla P(-), K(-), KC(-), C(-) ve UV(-). Ekolojik özellikleri: besince zengin, rüzgâra maruz, bol ışık alan, geniş yapraklı ağaçların kabukları üzerinde gelişir. İkincil metabolit: usnik asit, evernik asit (Smith et al., 2009; Wirth, 1995) (Şekil 3.1 C).



Şekil 3.1. Liken materyali A) *B. fuscescens* B) *E. prunastri* C) *R. fraxinea*.

3.1.2. Meyve materyali

Yapılan çalışmalarda bitkisel materyal olarak armut meyvesi kullanılmıştır. Bursa ili Gürsu ilçesinde armut üretim bahçesinden hasat edilen armut (cv. *Santa maria*) meyveleri denemelerde kullanılmıştır (Şekil 3.2). Hasat edilen armut meyveleri, aynı gün içerisinde Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü Hasat Sonu Patolojisi araştırma laboratuvarına getirilmiş ve uygulamalara başlanmıştır. Meyvelerin seçiminde çürük, ezik ve yaralı olanları ayrılmış ve tamamen sağlıklı bir görünüme sahip olan armut meyveleri denemelerde kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Laboratuvara getirilen denemelerde kullanılacak armut meyveleri.

3.1.3. Fungal mikroorganizmalar

Çalışmanın *in vitro* ve *in vivo* denemelerinde, Bursa Uludağ Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji anabilim dalında üretilmiş kurşuni küf etmeni *Botrytis cinerea* Pers. ve mavi küf etmeni *Penicillium expansum* Link, izolatları kullanılmıştır. Bu izolatlar üretimlerinden sonra kullanılacağı döneme kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.1.4. Besi ortamları

Fungal organizmaların çoğaltılmasında standart besiyeri Patates Dekstroz Agar (PDA, Difco) kullanılmıştır. Besiyerleri otoklavda 121 °C’de 15 dakika süre ile 1 atm basınç altında sterilize edilmiş ve strelizasyonun ardından 60 °C’ye kadar soğutulmuştur. Soğutulmuş besiyeri 7 cm çapındaki steril petri kaplarına 10’ar ml olarak dağıtılmıştır. Ayrıca liken ekstrelerinin fungus konidileri üzerindeki etkisinin belirlenmesi için Patates Dekstroz Broth (PDB, Difco) kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Likenlerin kurutulması ve muhafazası

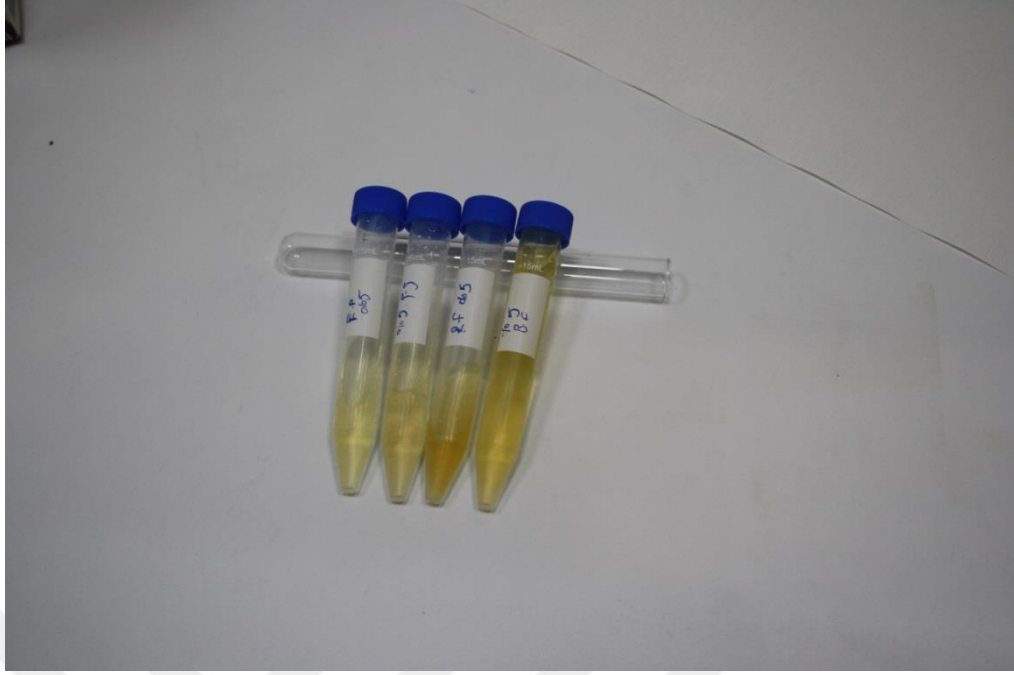
Toplanan liken örnekleri Bursa Uludağ Üniversitesi Biyoloji Bölümü Likenoloji Laboratuvarında Olympus marka stereo mikroskop kullanılarak ve çeşitli liken tayin anahtarları içeren kaynaklar yardımı ile teşhis edilmiştir (Smith ve diğerleri, 2009; Wirth 1995). Teşhis edilen örnekler olası nemi uzaklaştırmak için gölgede kurutularak derin dondurucuda -18 °C’de muhafaza edilmiştir. Cins, tür ve tür altı kategorilerin teşhis edilmesi için %10’luk potasyum hidroksit çözeltisi (**K**), 1 gr parafenilendiamin, 10 gr sodyum sülfid, 5 ml deterjan ve 100 ml sudan hazırlanmış parafenilendiamin çözeltisi (**P**), %3’lük sodyum hipoklorit çözeltisi (ya da ticari çamaşır suyu) (**C**), 0.5 gr iyot, 1.5 gr potasyum iyodür, 100 ml distile sudan hazırlanmış iyot çözeltisi (**I**), **K** ve **C**’nin ard arda uygulanması (**KC** ve **CK**), %50’lik nitrik asit çözeltisi (**N**) kullanılmıştır.

3.2.2. Liken ekstralarının hazırlanması

Toplanan liken örnekleri, stereo mikroskop yardımı ile incelenerek yabancı maddelerden temizlenmiş ve laboratuvarında oda sıcaklığında kurtulmuştur. Her bir ekstre için öğütücü yardımıyla toz haline getirilen liken örneklerinden 80 gr kullanılmıştır. Soxhlet cihazında %96'lık etil alkol ile 800 ml'ye tamamlanarak 8 saat süreyle 25°C'de ekstraksiyona tabii tutulmuştur (Şekil 3.3). Bu işlemin ardından liken ekstresi, içindeki etil alkolün uzaklaştırılması için Rotary Evaporatörde uçurma işlemine tabii tutulup ışık görmeyecek şekilde koyu renkli şişelerde buzdolabında +4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Soxhlet cihazında liken ekstralarının hazırlanması.



Şekil 3.4. Farklı yoğunluklardaki liken ekstraları.

3.2.3. *In vitro* ve *in vivo* denemelerinde kullanılacak fungal patojenlerin geliştirilmesi

Araştırmada kullanılacak, *B. cinerea* ve *P. expansum* stok kültürleri yeni kültüre alınmak üzere petrilere ekilmiştir. Kültürlerin eğik agardan petrilere ekim işlemi, fungusların misellerinin ve konidilerinin öze ile alınmasıyla gerçekleştirilmiştir. Petrilere ekim yapılan, *P. expansum* 4 gün süre ile *B. cinerea* ise 7 gün süre ile PDA besi ortamında 25°C’de inkübasyona bırakılarak gelişmeleri sağlanmış daha sonra, *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda kullanılmışlardır.

3.2.4. *In vitro* ortamda liken ekstralarının, fungus konidilerinin çimlenme ve çim tüpü uzunluklarına etkisinin belirlenmesi

Liken ekstralarının *B. cinerea* ve *P. expansum* konidilerinin çimlenme ve çim tüpleri üzerine etkisi *in vitro* denemeler ile ölçülerek belirlenmiştir. Konidilerin çimlenme yüzdeleri (%) ve çimlenen konidilerin çim tüpü uzunlukları (μm) ölçülerek belirlenmiştir. *B. cinerea* ve *P. expansum* kültürlerinin yetiştirildiği her bir petriye 10’ar ml steril su konulmuş ve petri kabı içerisinde konidiler öze yardımı ile dağıtılarak konidilerin suya geçmesi sağlanmıştır. Süspansiyon 3 katlı steril bir tülbent ile süzöldükten sonra steril ve kapaklı cam beherlere alınmıştır.

Cam beherler içerisindeki konidi süspansiyonlarının konsantrasyonları hemasitometre ile belirlenmiştir. *B. cinerea* için 1×10^5 konidi/ml ve *P. expansum* için 1×10^6 konidi/ml yoğunluğunda süspansiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar içerisinde *B. cinerea* için 300 µl, *P. expansum* için 100 µl konidi süspansiyonları mikro pipet ile farklı yoğunluklardaki liken ekstreleri ve PDB ortamı bulunan 5 ml'lik sıvı besi yeri içerisine eklenmiştir. Steril üç gözlü lamın her bir gözüne içerisinde besi yeri, liken ekstresi ve konidileri içeren sıvı süspansiyondan 30 µl, konulmuştur (Şekil 3.4).

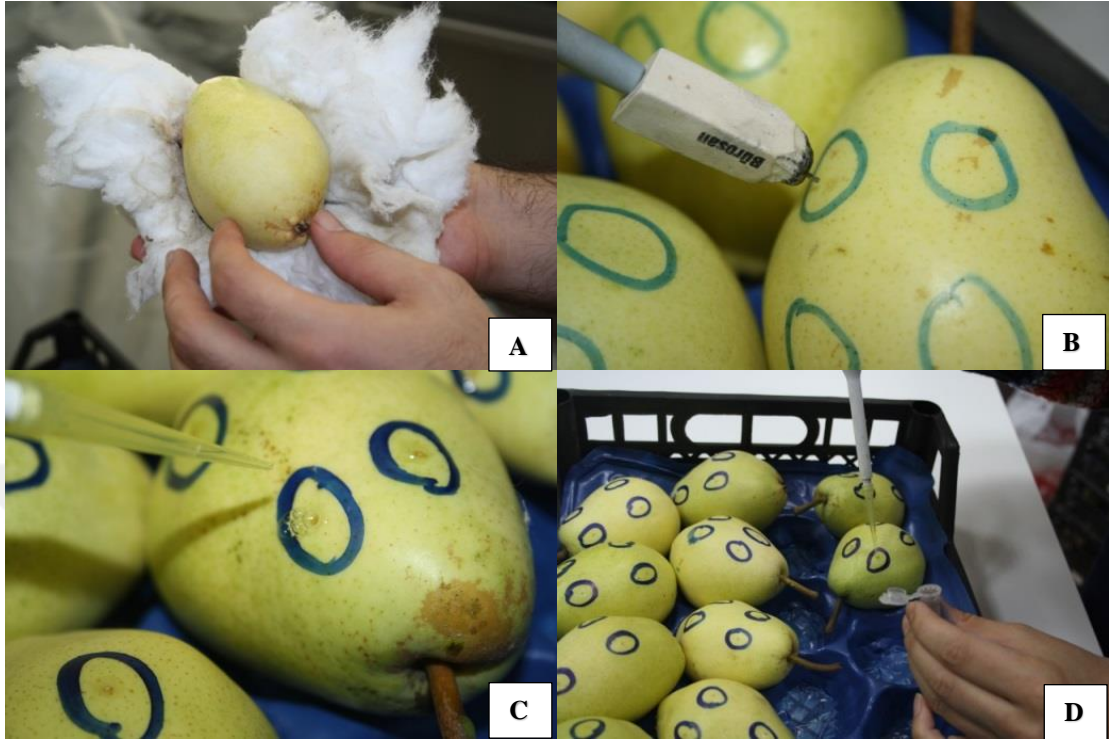
Tüm lamlar steril cam petrilerin ortasına yerleştirilen steril kurutma kâğıtları üzerine yerleştirilmiştir. Steril kurutma kâğıtları 1 ml steril saf su ile ıslatılarak nemlendirilmiştir. İçerisine nemlendirilmiş steril kurutma kâğıtları ve lamlar konulan cam petriler kapatılarak etrafı parafilm ile sarılıp 25 °C'deki inkübatöre yerleştirilmiştir. Lamlar likenlerin her bir konsantrasyonu için 3 tekerrürlü olacak şekilde hazırlanmıştır. *In vitro* denemeler 2 kez tekrarlanmıştır. Kontrol uygulaması liken ekstresi içermeyen PDB ve konidi süspansiyonundan hazırlanmıştır.

Lam gözlerinde çimlenen konidilerin çimlenme yüzdeleri (%) ve çim tüpü uzunlukları (µm) *P. expansum* için 12 saat, *B. cinerea* için ise 16 saat sonra, mikroskop altında incelenerek değerlendirilmiştir. Lamların her bir gözündeki 100 konidi, mikroskopta 10x merceğinde incelenmiştir. Konidilerin çim tüpü uzunluğu 10x mercekte ölçüldükten sonra 2,5 katsayısı ile çarpılarak mikro metre cinsinden uzunlukları hesaplanmıştır. Benzer şekilde çimlenme yüzdesi (%), tüm konsantrasyonlar için hesaplanmıştır. Konidilerin çimlenme yüzdeleri (%) hesaplanırken, konidilerin kendi boylarından daha uzun çim tüpüne sahip konidiler, çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. Liken ekstrelerinin konidilerin çimlenme yüzdesi (%) ve çim tüpü (µm) uzunluklarına etkisini belirlemek amacıyla kullanılacak liken ekstrelerinin konsantrasyonları %10, %5, %2,5 ve %1 şeklinde düzenlenmiştir.

3.2.5. Armut meyvelerinin lezyon uygulamaları için hazırlanması ve *in vivo* denemeler

Armut meyvelerinin, %70'lik etil alkol ile yüzey dezenfeksiyonları yapılmış ve kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.5 A). 1 mm çapında ve 2 mm derinliğinde yara yeri açabilen

inokulasyon iğneleri ile meyvelerin yaralanması sağlanmıştır. Her meyvenin tek yüzüne 4 adet yara yeri açılmıştır (Şekil 3.5 B).



Şekil 3.5. Armut meyvelerinin lezyon uygulamaları için hazırlanması **A)** Armut meyvelerine yüzey dezenfeksiyonunun yapılması **B)** İnokulasyon iğneleri ile meyvelerin yaralanması **C)** Yara yerlerine patojen spor inokulumlarının verilmesi **D)** Yara yerlerine liken ekstrelerinin verilmesi.

Uygulamalarda 0. saat; meyvedeki yara yerlerine patojen uygulamalarının hemen ardından liken ekstresinin uygulanmasını ve 12. saat işlemi; meyvedeki yara yerlerine patojen uygulamalarından 12 saat sonra liken ekstresinin uygulanması olmak üzere 2 farklı deneme grubu oluşturulmuştur. 0. saat uygulama grubunda liken ekstrelerinin spor inokulumları dormant durumda iken etkileri gözlemlenmiş iken, 12. saat uygulamalarında çim tüpü oluşturmuş olan patojenlere karşı liken ekstrelerinin etkileri gözlenmiştir. Araştırmada kullanılacak fungus kültürlerinden konidi süspansiyonları *in vitro* denemelerde de anlatıldığı şekilde elde edilmiştir. *In vitro* çalışmalara benzer şekilde *B. cinerea* için 1×10^5 konidi/ml ve *P. expansum* için 1×10^6 konidi/ml yoğunluğunda spor süspansiyonları ile meyve inokulasyonları yapılmıştır. Liken ekstrelerinin meyve çürümesi üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacı ile 2 adet deneme yürütülmüştür.

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre her bir uygulamada 3 tekerrür olmak üzere her bir tekerrürde 14 meyve bulunacak şekilde gruplandırılmıştır.

In vivo uygulamalarda kullanılacak olan liken konsantrasyonları *in vitro* uygulamalar ile belirlenen dozlar yardımı ile belirlenmiştir. *In vivo* denemelerde her bir liken türü için %10 ve %5 konsantrasyonları kullanılmıştır. Meyvelere inokulasyonda kullanılan patojenler *in vitro* denemelerde anlatıldığı gibi elde edilmiş, *B. cinerea* 1×10^5 konidi/ml ve *P. expansum* için 1×10^6 konidi/ml yoğunluğunda süspansiyonlar meyve inokulasyonlarında kullanılmıştır. Yaralanma işlemi tamamlanmış meyvelere mikropipet yardımı ile her yara yerine 20 µl patojen inokule edilmiştir (Şekil 3.5 C). İnokulasyon işleminin tamamlanması ile yara yerleri 1 saat süre ile kurumaya bırakılmıştır. Bu süre sonunda, 0. saat uygulama gruplarına her yara yerine liken ekstrelerinden 20 µl mikropipet yardımı ile uygulanmıştır (Şekil 3.5 D). 12. saat deneme grubunda ise 0. saat uygulamalarında olduğu gibi liken ekstreleri yara yerlerine uygulandıktan 12 saat sonra aynı yara yerlerine patojen inokulasyonu yapılmıştır. Kontrol meyvelerine liken ekstreleri yerine steril saf su uygulanmıştır. Liken ekstresi ve patojen inokulasyonu yapılan tüm meyveler 4 gün süre ile 25 °C'de ve %95 nem içeren depoda muhafaza edilmişlerdir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Uygulama sonrasında 25 °C'de ve %95 nem içeren depoda muhafaza edilen armut meyveleri.

Muhafaza süresi sonunda meyvelerdeki yara yerlerinde patojen kaynaklı enfeksiyonun gelişip gelişmediği kontrol edilmiş, lezyon bölgesi çapları ölçülmüş, meyve çürüme yüzdeleri hesaplanmıştır. Yara yeri çevresinde enfeksiyon gelişimi, aynı bölgede kahverengileşmenin olup olmadığına bakılarak karar verilmiştir.

3.2.6. Elektron mikroskobu ile görüntüleme

Liken ekstralarının *B. cinerea* ve *P. expansum*'un armut meyvelerindeki gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmak üzere yapılan çalışmada, uygulamadan 24 saat sonra, yaralanan dokulardan (1-2 mm²) parçalar kesilerek 7 gün süre ile derin dondurucuda (-80 °C) bekletilmesinin ardından 16 saat süre ile dondurulmuş olarak liyofizer kurutma cihazına (Labconco Marka/Freezone1 Model) konularak -40 °C'de kurutulmuştur (Şekil 3.7). Kurutulan numuneler altın-paladyum elektrokaplama ile kaplanmıştır. Tüm örnekler 1.50 KX büyütme seviyesinde 15 kV'de ZEISS EVO 40 marka taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiş ve fotoğraflanmıştır.



Şekil 3.7. SEM örneklerinin hazırlanmasında kullanılan liyofizer cihazı.

3.2.7. İstatistiksel analiz

In vitro ve *in vivo* denemelerden elde edilen tüm veriler JMP istatistik programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Uygulamalar arası farklılıkların belirlenmesi amacı ile LSD testi ($P \leq 0.05$) uygulanmıştır.



4. BULGULAR

4.1. *In vitro* Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Bulgular

4.1.1. Liken ekstralarının *Botrytis cinerea* konidilerinin çim tüpü uzunluğuna (μm) ve çimlenme yüzdesi üzerine etkisi

Yürütülen çalışma kapsamında genel olarak bütün liken ekstralarının tüm konsantrasyonlarda kontrole göre konidilerin çimlenme oranlarının azaldığı ve çim tüpü uzunluklarının kısaldığı görülmüştür. Her iki denemenin bulguları birbiri ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca ekstraların artan konsantrasyonlarında etkinlik oranlarının da arttığı gözlenmiş ve daha etkin sonuçlar elde edilmiştir.

B. cinerea konidileri üzerinde liken ekstralarının etkisinin belirlendiği *in vitro* çalışmalarda, ekstraların konsantrasyonlarının etkinliği kontrol grubunun konidi çimlenme yüzdeleri ve çim tüpü uzunluklarına göre değerlendirilmiştir.

Tüm liken ekstralarının %10 konsantrasyonları konidilerin çimlenmesini tamamen engellemiştir. Ayrıca, *E. prunastri* %5 ekstresinde kontrol grubunda 55 μm olarak ölçülen çim tüpü uzunluğunu 0,08 μm ye düşürerek, %10 konsantrasyon ile aynı istatistiksel değere sahip olmuştur. *B. cinerea* konidilerinin çimlenmesinin engellenmesinde, *B. fuscescens* %1 konsantrasyonunda çim tüpü uzunluğu 54,85 μm olarak kaydedilmiştir ve bu uygulama grubu için en etkisiz liken türü olduğu tespit edilmiştir. Bu patojene karşı *in vitro* koşullarda *R. fraxinea* %5 konsantrasyonu çim tüpü uzunluğunu 26,13 μm 'ye indirmiş ancak çimlenme yüzdesi %97,66 ile kontrol grubundan farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, 4.2 ve 4.4).

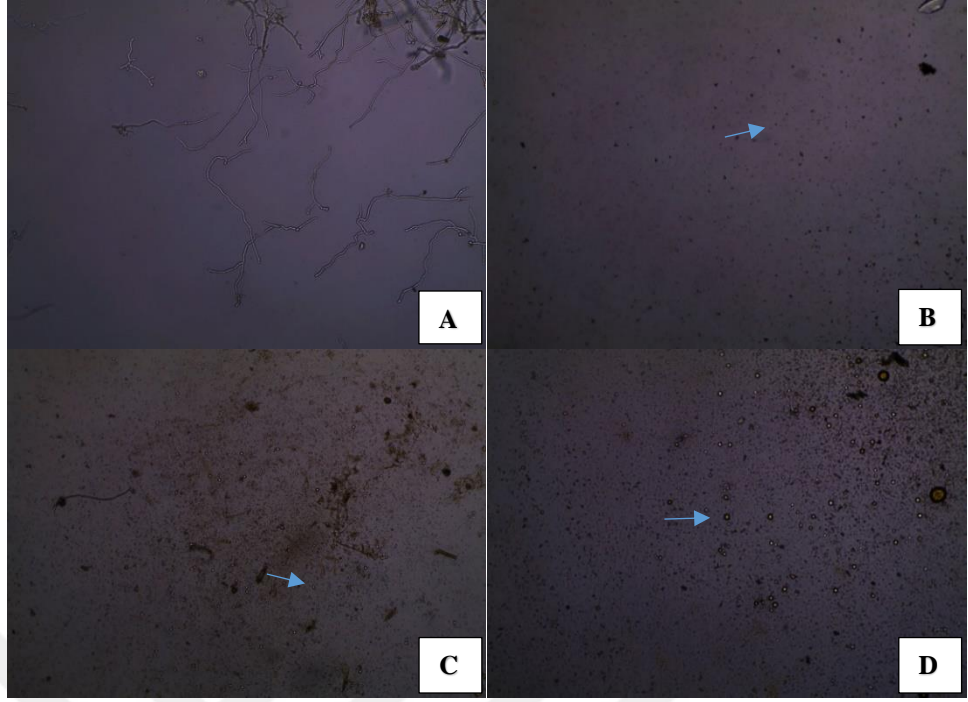
2. deneme kapsamında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. *B. cinerea*'nın çim tüpü uzunluğu, kontrol grubunda 53,50 μm olarak ölçülmüş iken *E. prunastri* %10'luk dozu çim tüpü gelişimini ve konidilerin çimlenmesini tamamen engelleyerek %100 etkinlik göstermiştir. Yine, 1. denemeye paralel olarak diğer liken türlerinin de %10'luk konsantrasyonları da konidilerin çimlenmesini tamamen engellemiştir. Bunun yanı sıra bu deneme grubunda %5 *E. prunastri* konidilerin çimlenmesini tamamen durdurarak

yüksek bir etkinlik oluşturmuştur. Ayrıca, *B. fuscescens* %5 ekstresi 2,66 µm'lik çim tüpü uzunluğu ile kontrol grubunda 53,50 µm olarak ölçülen çim tüpü uzunluğunu engelleme üzerine *R. fraxinea*'ye kıyasla oldukça yüksek bir etkinlik göstermiştir. Bu deneme için *B. fuscescens* çimlenme yüzdesi %23,66 olarak kaydedilmiştir. Çimlenme yüzdelere bakıldığında *B. fuscescens* ve *E. prunastri* %1, %2,5 ve *R. fraxinea* %5 ekstresi istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.2, 4.3).

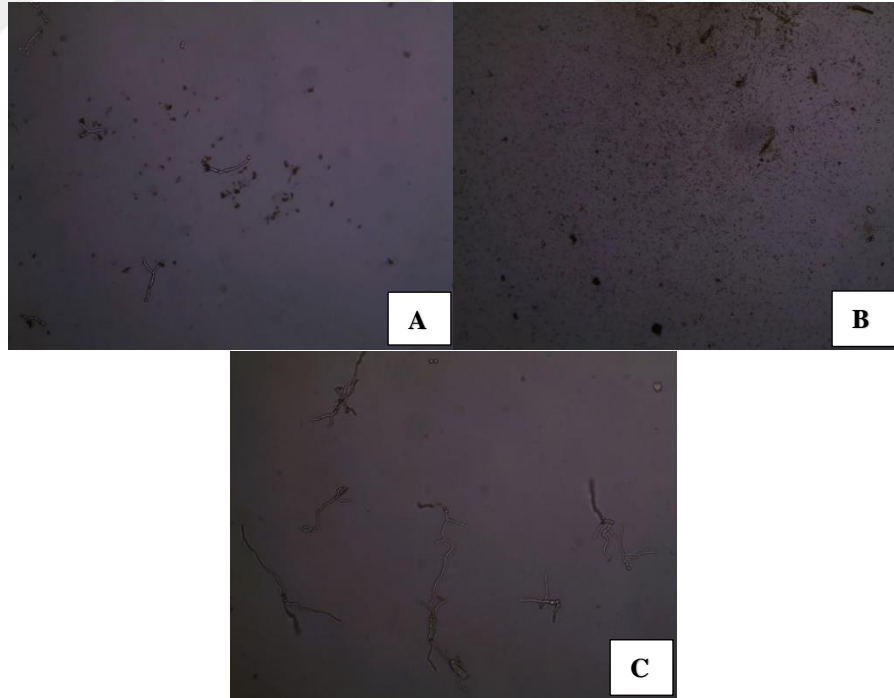
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin *B. cinerea* sporlarının çimlenme yüzdesi (%) ve çim tüpü uzunluğuna etkisi

Liken ekstresi	Ekstre konsantrasyonu (%)	Çim tüpü uzunluğu (µm)		Spor çimlenmesi (%)	
		1. Uygulama	2. Uygulama	1. Uygulama	2. Uygulama
		Kontrol 55 a*	Kontrol 53,50 a	Kontrol 100 a	Kontrol 100 a
<i>B. fuscescens</i>	1	54,85 a	52 a	100 a	99,33 a
<i>E. prunastri</i>		40,83 bc	40,66 cd	100 a	99,33 a
<i>R. fraxinea</i>		48,63 ab	45,66 bc	100 a	98,33 a
<i>B. fuscescens</i>	2,5	39,8 bc	38 de	100 a	98,33 a
<i>E. prunastri</i>		11,13 e	11,83 g	97,33 a	96,33 a
<i>R. fraxinea</i>		31,9 cd	31,66 ef	100 a	97,66 a
<i>B. fuscescens</i>	5	3,4 ef	2,66 h	27 b	23,66 b
<i>E. prunastri</i>		0,08 f	0 h	3,66 c	0 c
<i>R. fraxinea</i>		26,13 d	25,23 f	97,66 a	96,66 a
<i>B. fuscescens</i>	10	0 f	0 h	0 c	0 c
<i>E. prunastri</i>		0 f	0 h	0 c	0 c
<i>R. fraxinea</i>		0 f	0 h	0 c	0 c

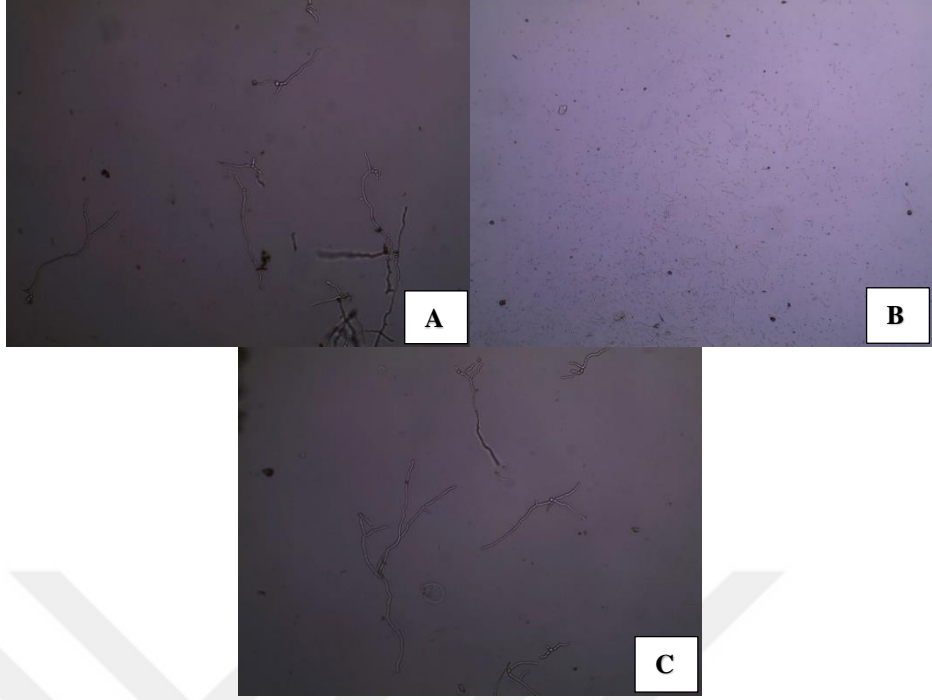
*İstatistiki analizlerde tüm sütunlar kendi içerisinde LSD ($P \leq 0,05$) testine göre değerlendirilmiştir.



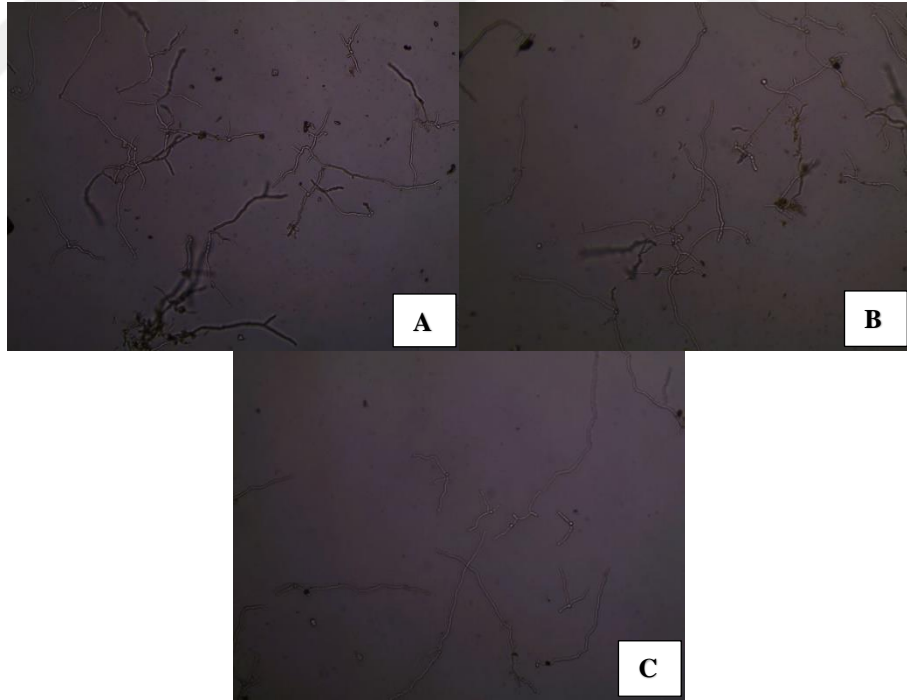
Şekil 4.1. %10 yoğunluktaki liken ekstralarının *B. cinerea* konidileri ve çim tütü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) Kontrol B) *B. fuscescens* C) *E. prunastri* D) *R. fraxinea*.



Şekil 4.2. %5 yoğunluktaki liken ekstralarının *B. cinerea* konidileri ve çim tütü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü A) *B. fuscescens* B) *E. prunastri* C) *R. fraxinea*.



Şekil 4.3. %2,5 yoğunluktaki liken ekstralarının *B. cinerea* konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** *B. fuscescens* **B)** *E. prunastri* **C)** *R. fraxinea*.



Şekil 4.4. %1 yoğunluktaki liken ekstralarının *B. cinerea* konidileri ve çim tüpü gelişimi etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** *B. fuscescens* **B)** *E. prunastri* **C)** *R. fraxinea*.

4.1.2. Liken ekstralarının *Penicillium expansum* konidilerinin çim tüpü uzunluklarına ( m) ve çimlenme yüzdesi üzerine etkisi

In vitro deneme sonuçları kapsamında liken ekstralarının tüm konsantrasyonlarının *P. expansum* çim tüpü uzunluklarını kontrole göre azalttığını göstermiştir. *B. cinerea*'ya benzer şekilde ekstre yoğunluğuna paralel olarak konidi gelişiminde de artış olduğu saptanmıştır. Liken ekstralarının *P. expansum* konidilerinin çimlenmesi ve çim tüpü üzerine etkisi, kontrol grubunun konidilerine göre değerlendirilmiştir.

Birinci deneme sonuçlarına bakıldığında, *P. expansum*'un konilerinin çimlenmesinin engellenmesinde *B. cinerea*'da olduğu gibi en yüksek etkinlik *E. prunastri* ekstresi uygulaması ile elde edilmiştir. *E. prunastri* ve *B. fuscescens* %10'luk ekstraları çimlenmeyi tamamen durdurmuştur. Aynı şekilde *E. prunastri* %5 ekstresinde de buna benzer bir etki görülmüş ve *E. prunastri* ve *B. fuscescens*'in yüksek konsantrasyonları ile aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Çizelge 4.2'de g r ld ği gibi birinci denemede *P. expansum*'un çim tüpü gelişimini engellemede en düşük etkiye sahip olan liken türü *R. fraxinea* olmuştur. Kontrol grubunda 45,76  m olarak  l len çim tüpü uzunluğunu *R. fraxinea* %10 konsantrasyon için 5,13  m olarak  l lm ş, konidi çimlenmesi ise %59,66 olarak kaydedilmiştir. Konidilerin çimlenmesini engelleme etkisine bakıldığında, bu liken türünü *B. fuscescens* takip etmektedir. *B. fuscescens*'in %5 konsantrasyonunda çim tüpü uzunluğu 9,10  m olarak  l lm ş iken konidilerin %86,66'sı çimlenmiştir. Ekstrelerin %2,5'luk yoğunluklarında *B. fuscescens* çim tüpü uzunluğu 28,20  m, *E. prunastri* ise 22,13  m olarak  l lm şt r. Tüm liken ekstralarının %1'lik konsantrasyonlarının spor çimlenmesi üzerinde herhangi bir engelleyici etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.5, 4.6, 4.7, 4.8).

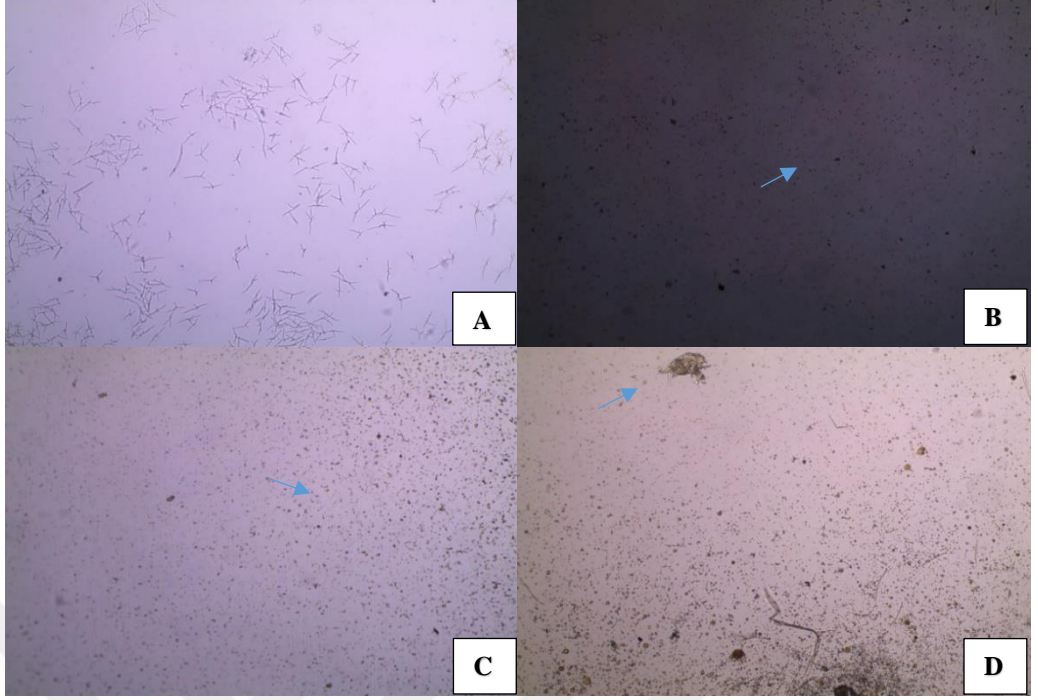
İkinci denemede de bu patojen üzerinde birinci denemeye paralel sonuçlar kaydedilmiştir. Bu deneme kapsamında *E. prunastri* %2,5 ve 1 konsantrasyonları için çim tüpü uzunluğu sırası ile 22,43 ve 20,76  m ve *R. fraxinaea* %5 ekstresi için 22,63  m olarak  l lm ş olup ve aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. *E. prunastri* %10 ekstresi birinci denemede olduğu gibi gelişimin tamamen önüne geçerek, aynı grup içinde yer alan *R. fraxinaea*'ya göre daha etkili bir engelleme özelliğine sahip olduğu saptanmıştır. *B. fuscescens* ise liken türleri içinde çim tüpünü engelleme oranlarına bakıldığında orta

düzye de etkinlik göstermiştir. Bu deneme de kontrol grubu çim tûpü uzunluğu 47,16 µm olarak ölçülmüş iken, en düşük düzeyde çim tûpü uzunluğu yine likenlerin %1'lik konsantrasyonlarında belirlenmiştir. İkinci deneme grubunda ekstrelerin, spor çimlenmesi üzerinde engelleme üzerine herhangi bir etki göstermediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8). Sonuçlar kontrol ile benzerdir.

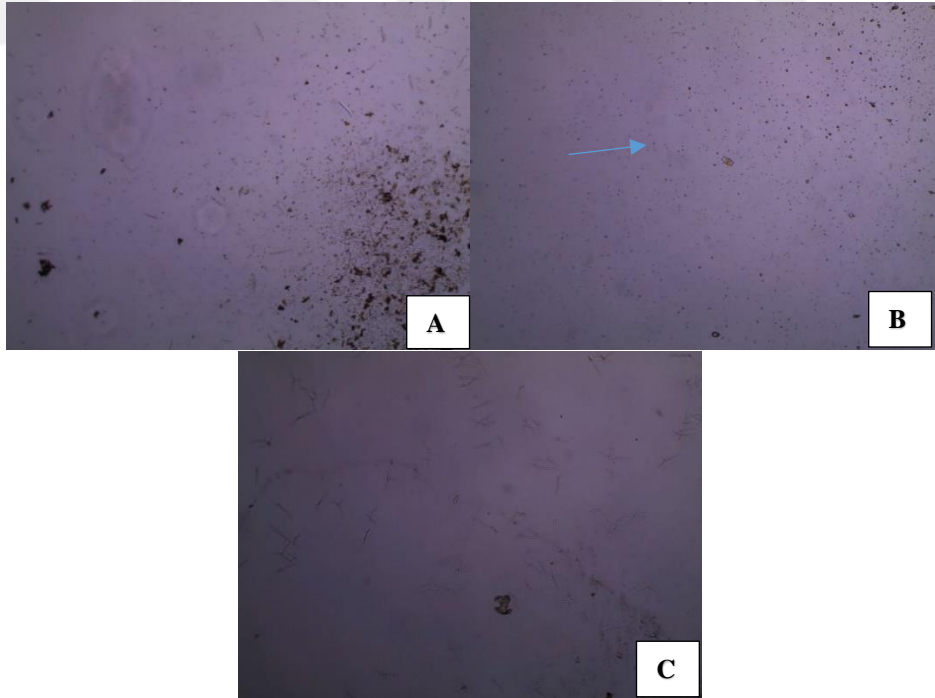
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstrelerinin *P. expansum* sporlarının çimlenme yüzdesi (%) ve çim tûpü uzunluğuna etkisi

Liken ekstresi	Ekstre konsantrasyonu (%)	Çim tûpü uzunluğu (µm)		Spor çimlenmesi (%)	
		1. Uygulama	2. Uygulama	1. Uygulama	2. Uygulama
		Kontrol 45,76 a *	Kontrol 47,16 a	Kontrol 100 a	Kontrol 100 a
<i>B. fuscescens</i>	1	32 b	30,53 bc	100 a	100 a
<i>E. prunastri</i>		24,66 ef	22,43 e	100 a	100 a
<i>R. fraxinea</i>		34,66 b	33 b	100 a	100 a
<i>B. fuscescens</i>	2,5	28,20 cd	26,5 d	100 a	100 a
<i>E. prunastri</i>		22,13 f	20,76 e	100 a	99,33 a
<i>R. fraxinea</i>		31,43 bc	28,16 cd	100 a	100 a
<i>B. fuscescens</i>	5	9,10 g	7,60 f	86,66 a	91,66 a
<i>E. prunastri</i>		0 1	0 h	0 c	0 c
<i>R. fraxinea</i>		25,73 de	22,63 e	96,33 a	96 a
<i>B. fuscescens</i>	10	0 1	0 c	0 h	0 c
<i>E. prunastri</i>		0 1	0 c	0 h	0 c
<i>R. fraxinea</i>		5,13 h	4,46 g	59,66 b	61 b

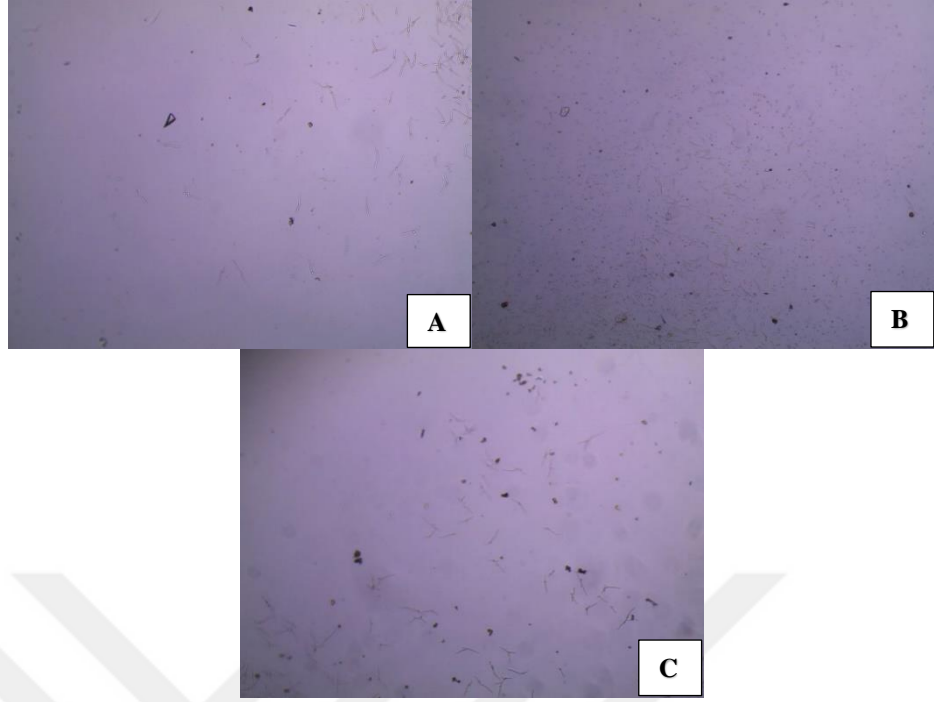
*İstatistiki analizlerde tüm sütunlar kendi içerisinde LSD ($P \leq 0,05$) testine göre değerlendirilmiştir.



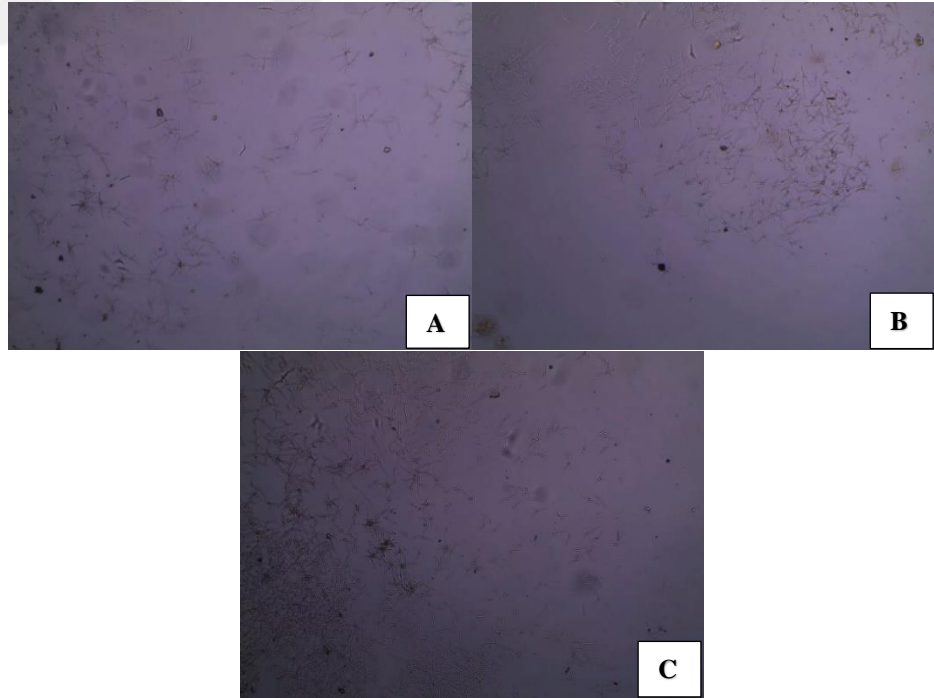
Şekil 4.5. %10 yoğunluktaki liken ekstralarının *P. expansum* konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** Kontrol **B)** *B. fuscescens* **C)** *E. prunastri* **D)** *R. fraxinea*.



Şekil 4.6. %5 yoğunluktaki liken ekstralarının *P. expansum* konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** *B. fuscescens* **B)** *E. prunastri* **C)** *R. fraxinea*.



Şekil 4.7. %2,5 yoğunluktaki liken ekstralarının *P. expansum* konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** *B. fuscescens* **B)** *E. prunastri* **C)** *R. fraxinea*.



Şekil 4.8. %1 yoğunluktaki liken ekstralarının *P. expansum* konidileri ve çim tüpü gelişimi üzerine etkisinin mikroskop görüntüsü **A)** *B. fuscescens* **B)** *E. prunastri* **C)** *R. fraxinea*.

4.2. *In vivo* Çalışmalar Sonucunda Elde Edilen Bulgular

4.2.1. Liken ekstrelerin *Botrytis cinerea* lezyon çapı (mm) üzerine etkisi

B. cinerea ve *P. expansum*'un armut meyvesinde neden olduğu enfeksiyonlarının kontrolünde liken ekstrelerinin etkinliğini değerlendirmek için iki farklı deney grubu oluşturulmuştur. 0. saat olarak adlandırılan birinci deney grubunda liken ekstreleri meyvedeki yaralara patojen uygulamalarından hemen sonra uygulanmıştır. İkinci deney grubunda 12. saat olarak adlandırılan liken ekstrelerinin meyvedeki yaralara patojen uygulanmasından 12 saat sonra uygulanmıştır. Uygulama yapılan tüm armut meyveleri 4 gün süre ile 25 °C'de ve %95 nem içeren depoda muhafaza edilmiştir. Elde edilen sonuçlar her iki denemede de kontrol gruplarına göre değerlendirilmiştir. Farklı uygulama materyallerinin depoda muhafaza edilmesinden sonra meyvelerde gelişen lezyon çapları Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Ekstre uygulamalarının artan konsantrasyonlarında etkinlik oranlarının arttığı tespit edilmiştir. 1. denemede lezyon çapı 0. saatte kontrol grubunda 15,08 mm olarak belirlenmiştir. Bu deneme grubunda *E. prunastri* %10 konsantrasyonu lezyon çapını 2,46 mm'ye indirerek önemli düzeyde etkinlik göstermiştir. *E. prunastri* den sonra en etkin liken ekstresinin %10'luk *R. fraxinea* olduğu tespit edilmiştir. *R. fraxinea* %10 ekstresinde lezyon çapı 10,98 mm olarak belirlenmiştir. Bu deneme grubunda *B. fuscescens* %5 ekstresi meyve çürümesini azaltmada etkili olamamıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.9, 4.10, 4.11).

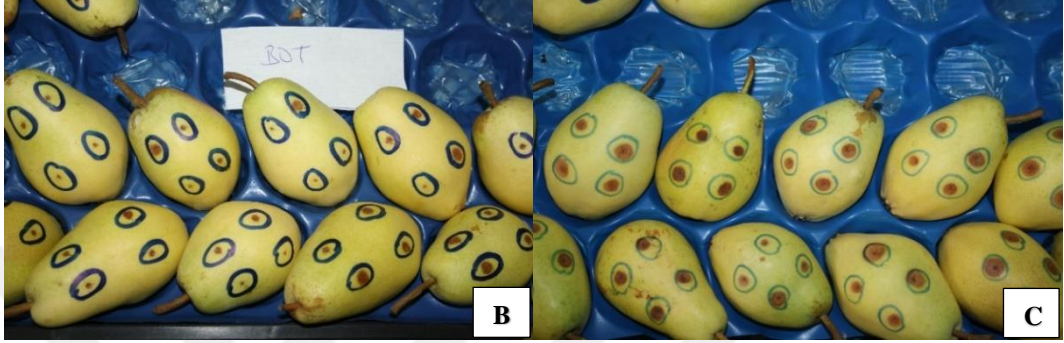
Lezyon çapı ölçümlerine bakıldığında 1. deneme sonuçlarının 2. deneme sonuçları ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır. Lezyon çapının gelişimini engellemede en etkili liken ekstresi 1. denemeye paralel olarak *E. prunastri*, en etkisiz liken türü ise *B. fuscescens* olmuştur. 0. saat 2. uygulamasında, kontrol grubu lezyon çapı 15,42 mm olarak ölçülmüş iken, *E. prunastri* %10 ve %5 ekstreleri sırası ile 3,66 mm ve 6,5 mm olarak ölçülmüştür. 0. saat uygulamalarında 2. deneme grubunda *B. fuscescens* ekstresinin tüm dozlarının patojen üzerinde lezyon çapını artırdığı yönünde bulgular elde edilmiştir.

B. cinerea üzerinde 12. saat uygulamalarının 0. saat uygulamalarına göre daha etkin olduğu tespit edilmiştir. Bu uygulama grubunda bütün ekstralarının meyve üzerinde lezyon çapı gelişimini engelleyici yönde bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. İlk deneme kapsamında *E. prunastri*'nin tüm dozları *B. cinerea* kaynaklı çürümelerin gelişimini tamamen engelleyerek oldukça yüksek bir engelleyici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca *B. fuscescens* %10 ekstresi 0,10 mm lezyon çapı ile bu deneme grubunda *E. prunastri* ile istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır. Bu verilere benzer sonuçlar 2. deneme de tespit edilmiştir. Bu grupta kontrol ölçümü 16,44 mm olmasına karşılık *E. prunastri* %10 0,19 mm *B. fuscescens* %5 4,83 mm ve *R. fraxinea* %10 3,98 mm ile istatistiki olarak aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.12, 4.13, 4.14).

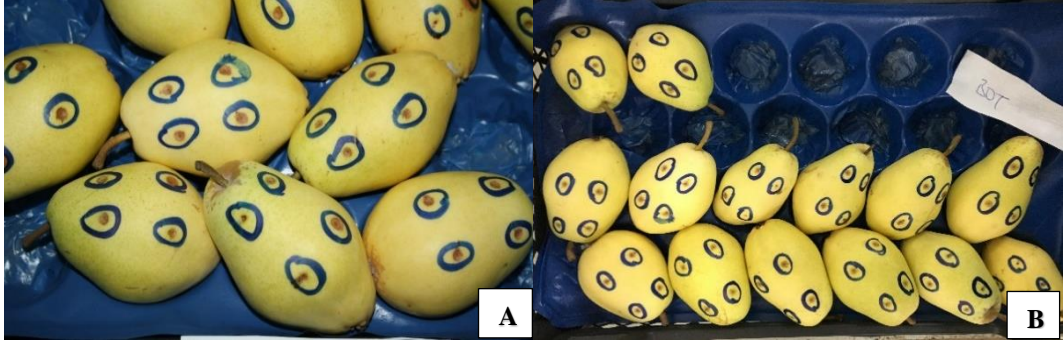
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstralarının *B. cinerea* lezyon çapına (mm) etkileri

Liken ekstresi	Ekstre konsantrasyonu (%)	Armut meyvelerindeki lezyon çapı (mm)			
		0. saat		12. saat	
		1. deneme	2. deneme	1. deneme	2. deneme
		Kontrol 15,08 c*	Kontrol 15,42 bc	Kontrol 20,10 a	Kontrol 16,44 a
<i>B. fuscescens</i>	5	22,03 a	22,19 a	6,32 c	4,83 c
<i>E. prunastri</i>		9,69 e	6,5 e	0 e	0,6 d
<i>R. fraxinea</i>		12,92 cd	14,07 cd	13,62 b	11,05 b
<i>B. fuscescens</i>	10	19,19 b	17,23 b	0,10 e	0,62 d
<i>E. prunastri</i>		2,46 f	3,66 f	0 e	0,19 d
<i>R. fraxinea</i>		10,98 de	11,96 d	3,80 d	3,98 c

*İstatistiki analizlerde tüm sütunlar kendi içerisinde LSD ($P \leq 0,05$) testine göre değerlendirilmiştir.



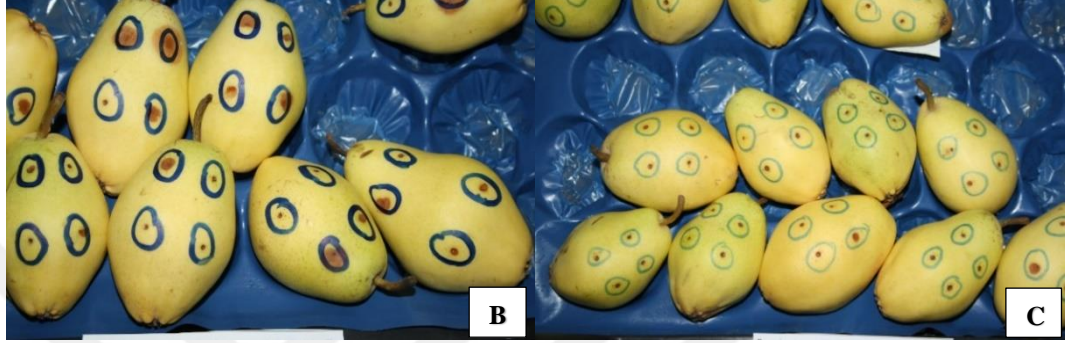
Şekil 4.9. *B. fuscescens* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10



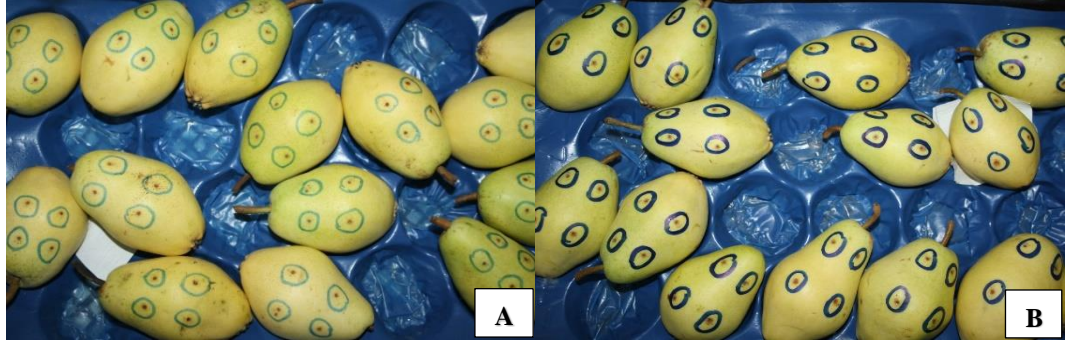
Şekil 4.10. *E. prunastri* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10



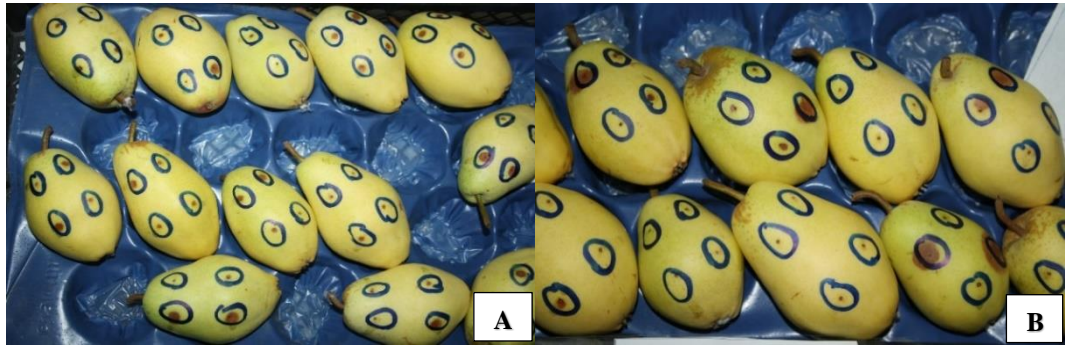
Şekil 4.11. *R. fraxinea* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) %5 B) %10



Şekil 4.12. *B. fuscescens* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** Kontrol **B)** %5 **C)** %10



Şekil 4.13. *E. prunastri* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10



Şekil 4.14. *R. fraxinea* ekstresinin *B. cinerea* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10

4.2.1. Liken Ekstrelerin *Penicillium expansum* lezyon çapı (mm) üzerine etkisi

P. expansum'un armut meyvelerinde neden olduğu çürümelere karşı farklı liken ekstrelerinin lezyon çapı üzerindeki etkilerine ait ölçümler Çizelge 4.4'de gösterilmiştir.

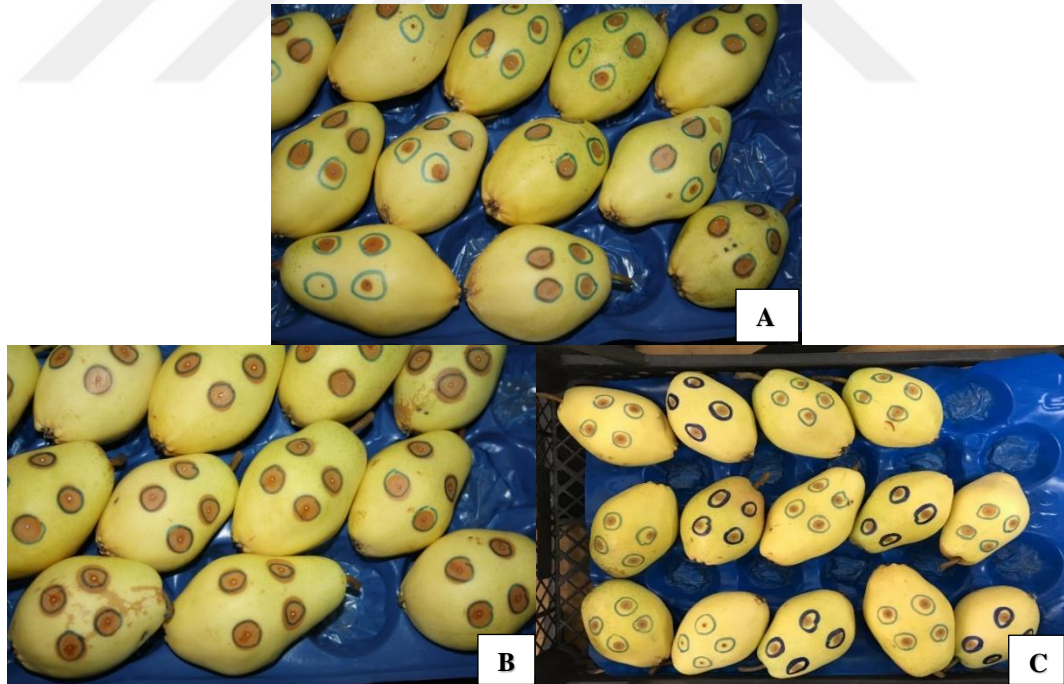
Elde edilen verilerin *B. cinerea*'ya karşı elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak, liken ekstrelerinin *P. expansum* lezyon çapı üzerindeki etkisi daha düşük bulunmuştur. Yapılan ölçümlerde 1. denemenin 0. saat kontrol grubu lezyon çapı 12,08 mm, *E. prunastri* %10 ekstresi ise 8,32 mm olarak ölçülmüştür, bu uygulamayı 9,85 mm ile yine *E. prunastri*'nin %5 ekstresi takip etmiştir. Bu grupta *B. fuscescens* ekstrelerinin her iki konsantrasyonu da lezyon çapını azaltmada etkili olmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde ikinci denemede de *B. fuscescens*'in lezyon çapını azaltmada engelleyici bir etki göstermediği belirlenmiştir. 0. saat uygulama grubunun ikinci denemesi kapsamında 11,14 mm olarak ölçülen kontrol grubuna göre *B. fuscescens* ve %5 ve %10 ekstreleri sırası ile 13,10 ve 14,37 mm'lik lezyon çapı ile *B. cinerea*'ya benzer şekilde fungusun gelişimini artırıcı yönde bir etki göstermiştir. Buna ek olarak, *R. fraxinea* ekstrelerinin her iki dozu da aynı istatistiksel grup içinde yer almıştır (Çizelge 4.4, Şekil 4.15, 4.16, 4.17).

Yapılan çalışmalar, *P. expansum* üzerinde 12. saat uygulamalarının 0. saat uygulamalarına göre lezyon çapının azaltmada daha etkili olduğunu göstermiştir. *P. expansum* 12. saat uygulamalarında *E. prunastri*'nin tüm konsantrasyonları her iki denemede de kontrole göre en yüksek oranda patojen gelişimini baskılayan bir sonuç oluşturmuştur. Birinci deneme kontrol grubu için 12,94 mm ölçülmesine karşın %10'luk *E. prunastri* ekstresi 2,37 mm'ye indirerek kontrol grubuna göre lezyon çapı gelişimini istatistiki açıdan önemli ölçüde azaltmıştır. Buna ek olarak, 12. saat uygulamasının 1. denemesinde *B. fuscescens*, *R. fraxinea* %10 ekstreleri ve *E. prunastri* %5 ekstresi sonuçlarının istatistiki açıdan farklılık göstermediği saptanmıştır. 12. saat uygulamasının 2. denemesinde *P. expansum* kaynaklı çürümelere engellenmesinde en etkili uygulama *E. prunastri* %10 ekstresi ile elde edilmiştir. Kontrol grubunda 12,46 mm olan lezyon çapını 1,80 mm'ye indirerek istatistiksel anlamda lezyon çapını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.18, 4.19, 4.20).

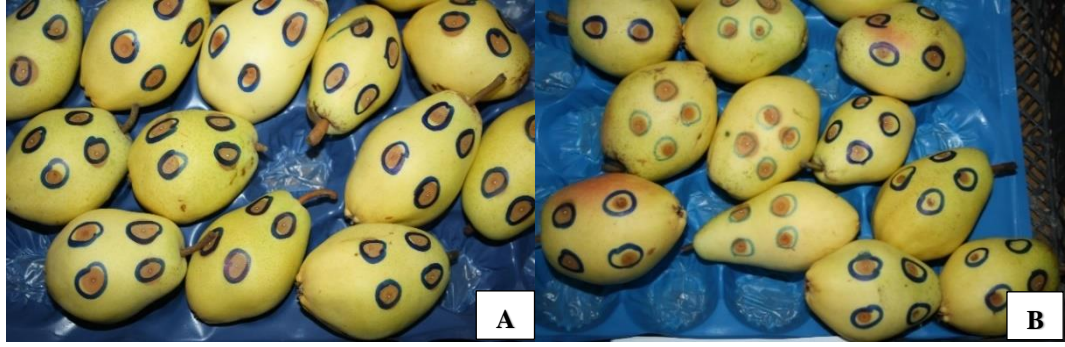
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki liken ekstralarının *P. expansum* lezyon çapına (mm) etkileri

Liken ekstresi	Ekstre konsantrasyonu (%)	Armut meyvelerindeki lezyon çapı (mm)			
		0. saat		12. saat	
		1. deneme	2. deneme	1. deneme	2. deneme
		Kontrol 12,08 c*	Kontrol 11,14 c	Kontrol 12,94 a	Kontrol 12,46 a
<i>B. fuscescens</i>	5	15,37 a	14,37 a	10,23 b	9,47 bc
<i>E. prunastri</i>		9,85 e	8,12 e	7,96 c	6,46 de
<i>R. fraxinea</i>		10,98 d	9,96 d	11,82 a	10,75 ab
<i>B. fuscescens</i>	10	14,25 b	13,10 b	8,83 c	5,75 e
<i>E. prunastri</i>		8,32 f	6,92 f	2,37 d	1,80 f
<i>R. fraxinea</i>		10,67 de	9,64 d	7,64 c	7,94 cd

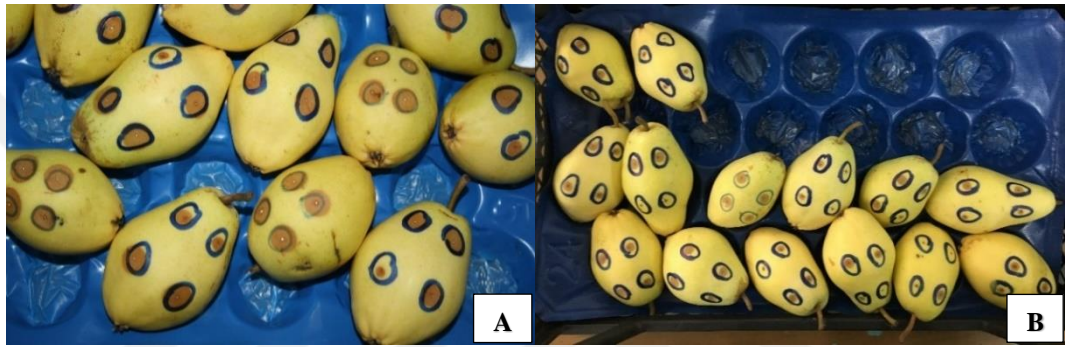
*İstatistik analizlerde tüm sütunlar kendi içerisinde LSD ($P \leq 0,05$) testine göre değerlendirilmiştir.



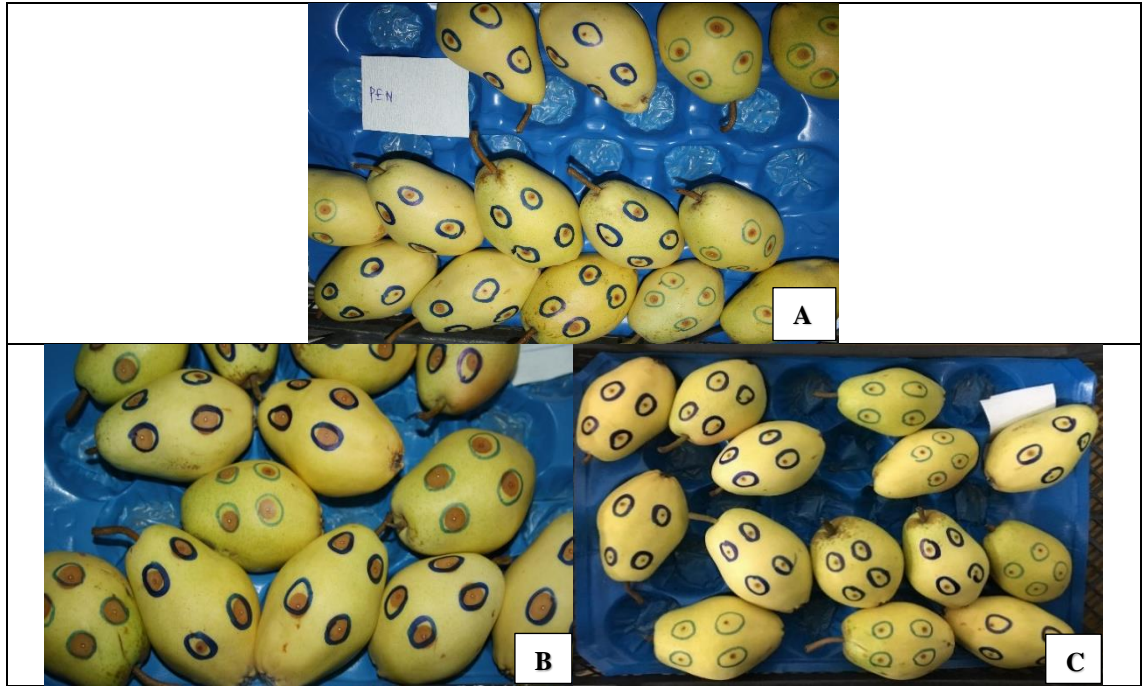
Şekil 4.15. *B. fuscescens* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi A) Kontrol B) %5 C) %10



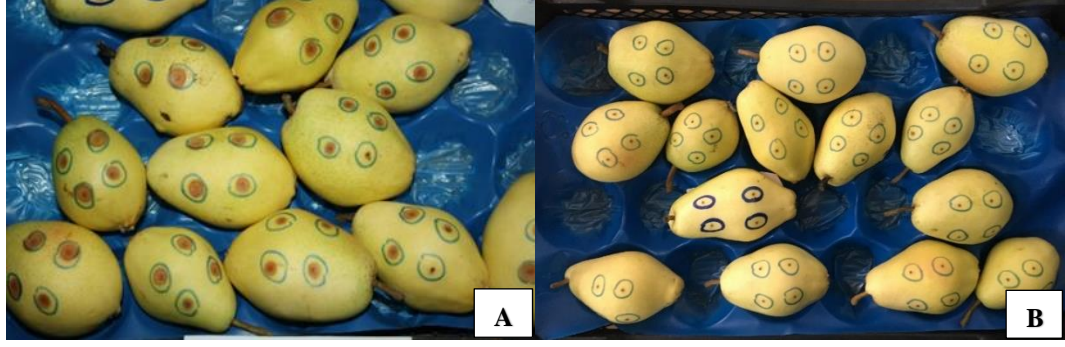
Şekil 4.16. *E. prunastri* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10



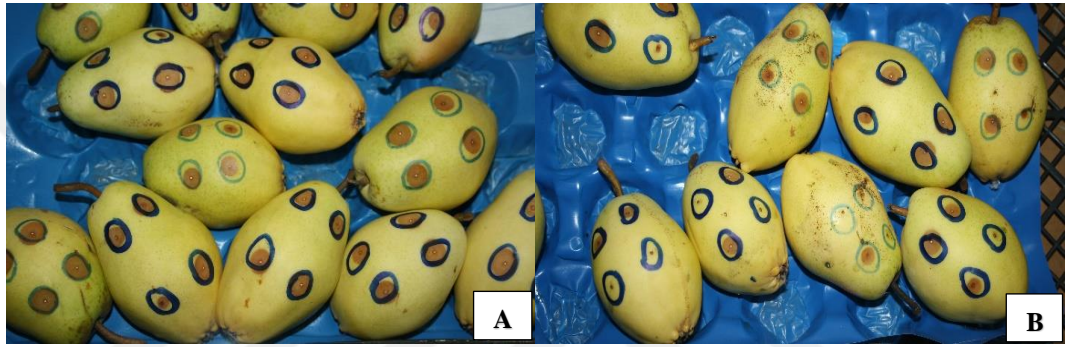
Şekil 4.17. *R. fraxinea* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 0. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10



Şekil 4.18. *B. fuscescens* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** Kontrol **B)** %5 **C)** %10



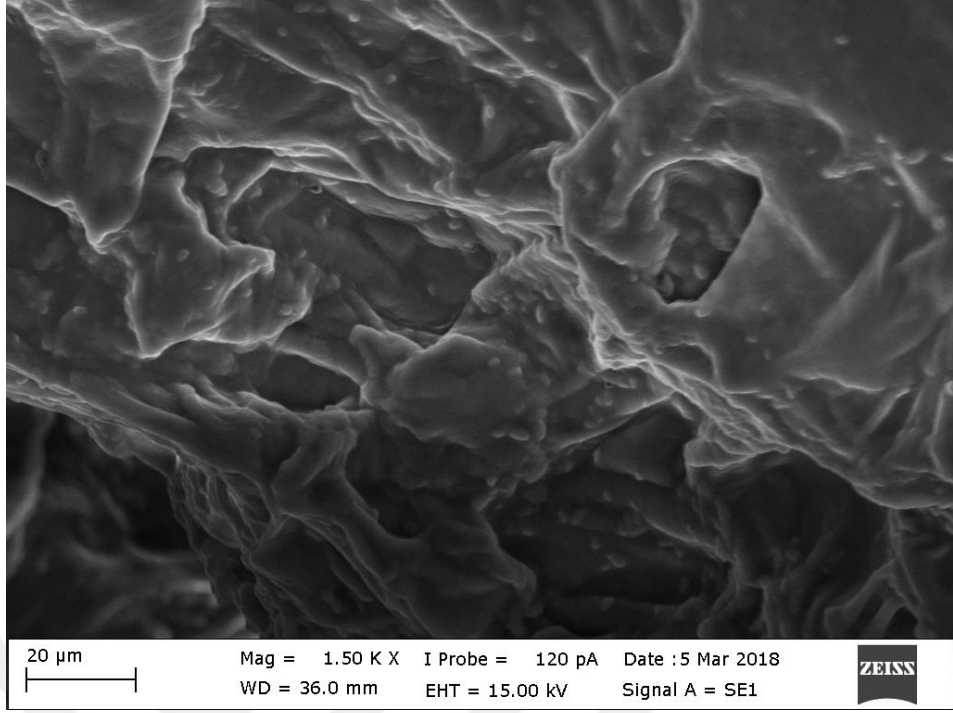
Şekil 4.19. *E. prunastri* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10



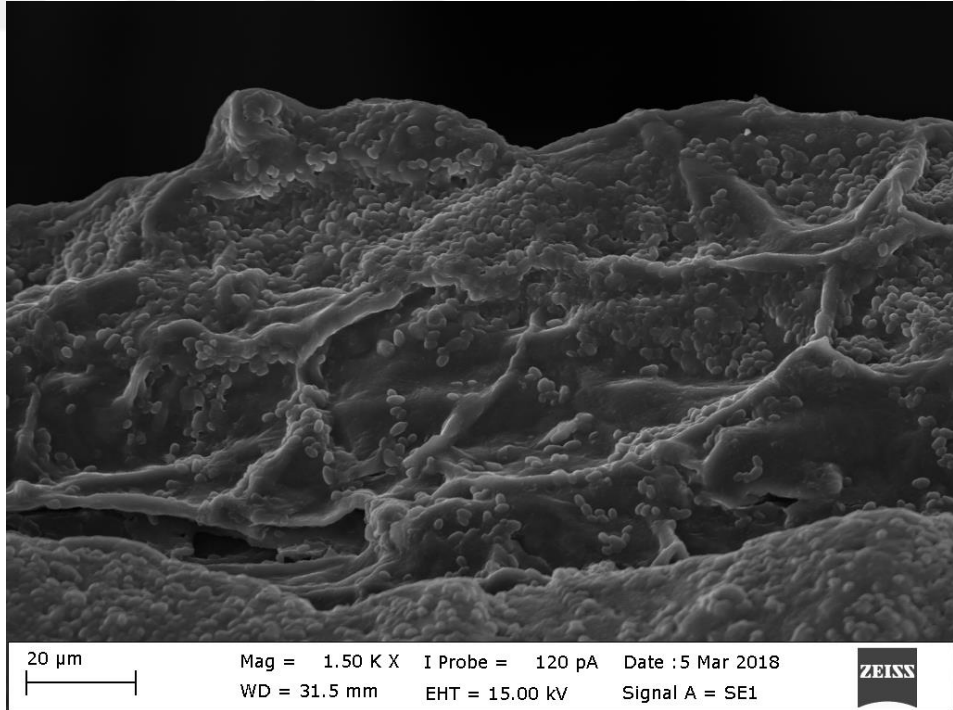
Şekil 4.20. *R. fraxinea* ekstresinin *P. expansum* ile inokule edilmiş armut meyvelerinde 12. saatte lezyon gelişimi üzerine etkisi **A)** %5 **B)** %10

4.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile Görüntüleme

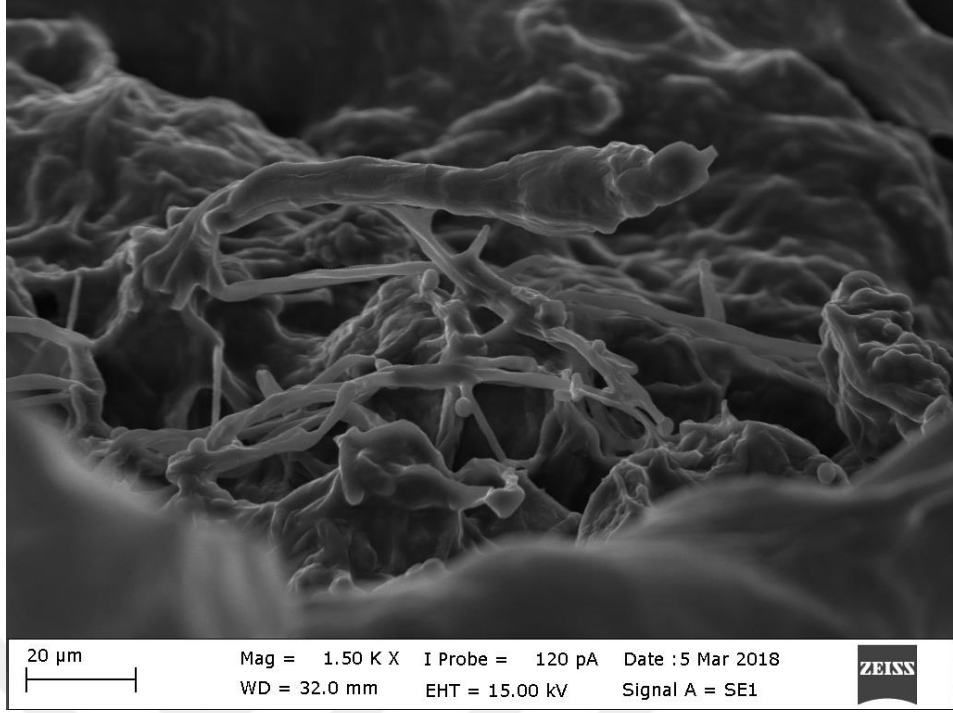
Liken ekstralarının bitki patojeni fungusların *in vitro* ve *in vivo* koşullarda gelişimini engellenmesi ve etki mekanizmalarını anlamak amacı ile SEM incelemeleri yapılmıştır. SEM incelemesi, özellikle ekstraların 12. saat uygulamalarında her iki patojen türü içinde fungusların spor çimlenmesini tamamen engelleyerek patojenlerin gelişimini durdurmuştur (Şekil 4.21, 4.22). %10 yoğunlukta uygulanan *B. fuscescens* ekstresinin 0. saat uygulamasında *Penicillium expansum*'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsünde çok sayıda çimlenen sporlar, çim tüpleri ve misel gelişimi görülmektedir (Şekil 4.23). *In vivo* koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan *E. prunastri* ekstresinin 12. saat uygulamasında *P. expansum*'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü incelendiğinde az sayıda sporun çimlendiği görülmektedir (Şekil 4.24). Aynı likenin %5'lik konsantrasyonunda ise çimlenen spor sayısının arttığı görülmektedir (Şekil 4.25).



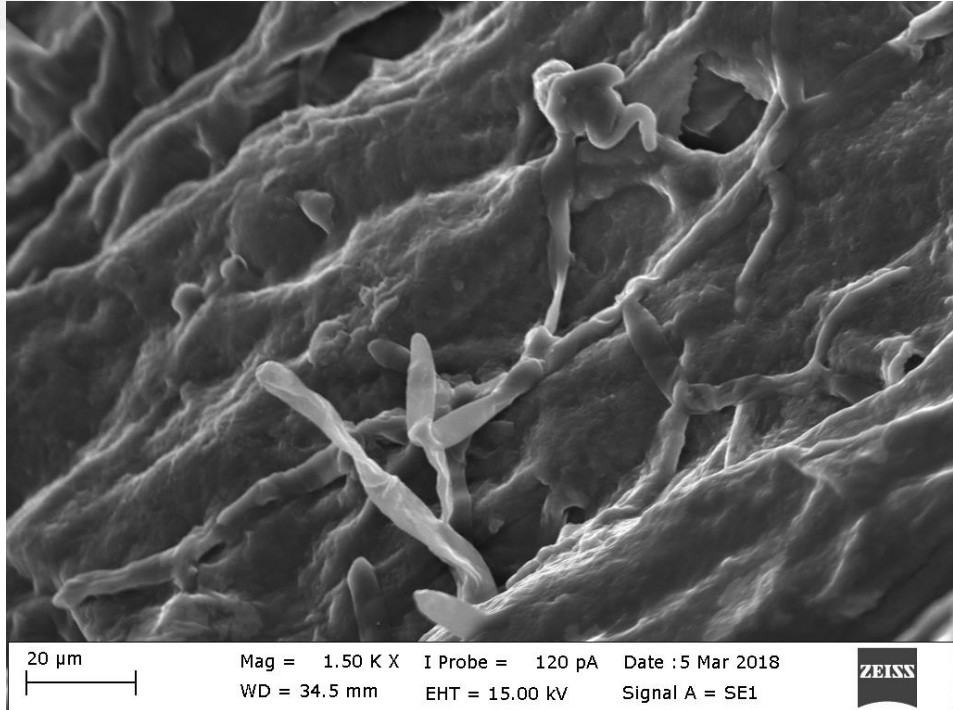
Şekil 4.21. *In vivo* koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan *B. fuscescens* ekstresinin 12. saat uygulamasında *B. cinerea*'nın oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çimlenmemiş sporlar).



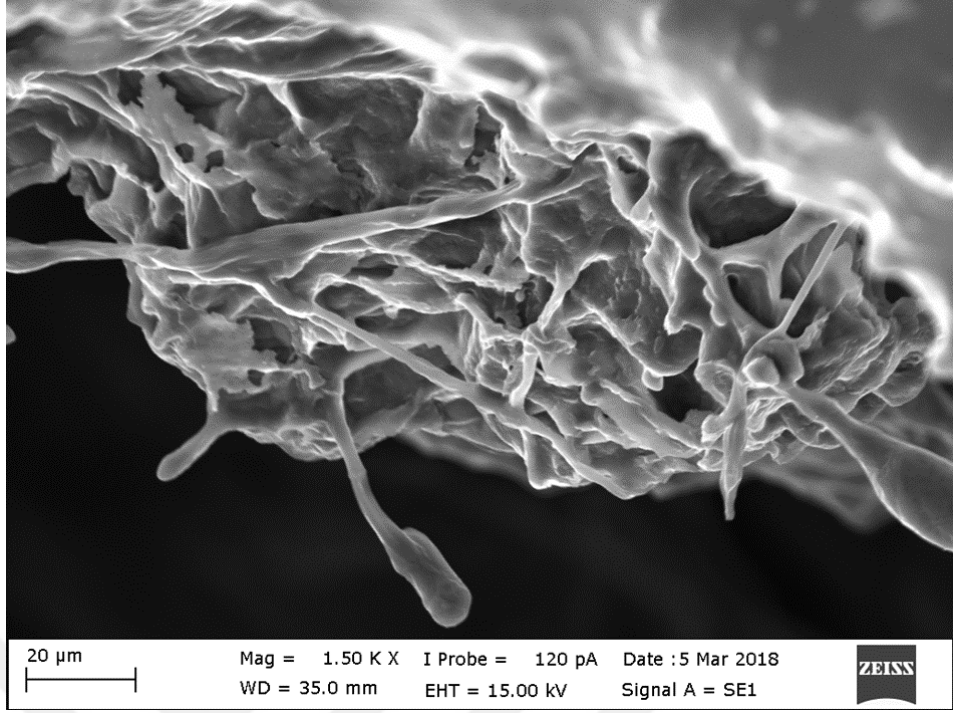
Şekil 4.22. *In vivo* koşullarda %5 yoğunlukta uygulanan *E. prunastri* ekstresinin 12. saat uygulamasında *B. cinerea*'nın oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çimlenmemiş sporlar).



Şekil 4.23. *In vivo* koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan *B. fuscescens* ekstresinin 0. saat uygulamasında *P. expansum* 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (yüksek sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller).



Şekil 4.24. *In vivo* koşullarda %10 yoğunlukta uygulanan *E. prunastri* ekstresinin 12. saat uygulamasında *P. expansum* 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (az sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller)



Şekil 4.25. *In vivo* koşullarda %5 yoğunlukta uygulanan *E. prunastri* ekstresinin 12. saat uygulamasında *P. expansum* 'un oluşturduğu lezyon alanının SEM görüntüsü (çok sayıda çimlenmiş sporlar, gelişen çim tüpü ve miseller)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitki yetiştiriciliğinde, tohum çimlenmesinden başlayarak, vejetatif gelişim döneminde ya da sebze ve meyvelerde hasat sonrasında gelişen fungal hastalıklar büyük miktarda ürün kaybına neden olurlar. Bu patojenler ürünü tüketim için elverişsiz hale getirirler ve ayrıca bazı hasat sonrası patojenler kanserojen olabilen mikotoksinler üretirler. Sentetik fungisitler hasat sonrası çürümelerin kontrol edilmesinde kullanılan ana önlemlerin başında yer almaktadır. Pestisit kalıntıları ve sürekli uygulamadan kaynaklanan dirençli fungus türlerinin gelişimi kullanımlarındaki başlıca sorunlardandır. Bitki türevli bileşiklerin genellikle sentetik olanlardan daha kabul edilebilir ve daha az zararlı olduğu varsayılır. Bu nedenle, sentetik fungisitlere yeni alternatifler olarak kullanılması düşünülmelidir.

Armutlarda patojenlerin neden olduğu hasat sonrası hastalıklar büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Armut çok çabuk bozulabilen ve hasat sonrası çürümeye karşı hassas bir meyvedir. Bu nedenle uygun olgunlukta hasat edilmeli ve uygun bir şekilde depolanmalıdır. Meyve kalitesinin korunması, solunum ve olgunlaşma sürecini azaltmak için hasattan hemen sonra soğutulmasıyla sağlanmaktadır. Bununla birlikte, bu süre zarfında armutlar, önem sırasına göre; *Penicillium*, *Botrytis*, *Alternaria* ve ayrıca *Gloeosporium*, *Rhizopus*, *Monilinia* ve *Mucor* cinsine ait mantarlar olmak üzere çok sayıda hasat sonrası patojenin saldırılarına maruz kalmaktadır. (Sardella et al., 2016).

Araştırma kapsamında armut meyvelerinde çürümelere sebep olan önemli hasat sonu patojenlerinden *B. cinerea* ve *P. expansum* 'a karşı liken ekstrelerinin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla liken ekstrelerinin etkinlikleri *in vitro* ve *in vivo* denemelerde incelenmiştir.

Sonuçlara göre *B. cinerea* ve *P. expansum* liken ekstrelerinden farklı düzeyde etkilenmiştir. Ekstrelerin antifungal etkisi, ekstre ve patojen türlerine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. *In vitro* çalışmalarda tüm liken ekstreleri konidilerinin çimlenmesinin engellenmesinde, artan konsantrasyonlar ile orantılı yüksek etkinlik göstermiştir.

Genel olarak, *in vivo* denemelerde de artan konsantrasyon ile ekstreler, tüm deneme gruplarında fungusların lezyon çapını azaltmıştır. *In vivo* denemelerde, tüm ekstrelerin 12. saat uygulamalarında kontrol gruplarına göre lezyon çapında önemli bir düşüş olduğu gözlenmiştir. Bu uygulama grubunun patojenler üzerinde 0. saat uygulamalarına göre daha etkin olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, liken ekstrelerinin artan konsantrasyonları ile bazı bitki patojeni fungusların antifungal etkileri arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu ortaya koyan benzer çalışmalar ile uyum içindedir.

Likenler, bir kısmı mantar bir kısmı alg ortak tarafından sentezlenen proteinler, aminoasitler, polioller, karotenoitler, polisakkaritler ve vitaminler gibi pek çok canlıda bulunan ve yaşamsal işlevler ile doğrudan ilişkili primer metabolitler sentezlemektedir. Bu metabolitler suya kolaylıkla geçebilmektedir. Shahi et al. (2001), *Heterodermia leucomela*'nın su ekstresi ile insan ve bitki patojenlerine (*Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. parasiticus*, *B. cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, *Curvularia lunata*, *Fusarium moniliforme* *Fusarium oxysporum*, *Penicillium implicatum*, *P. italicum* ve *P. minioluteum*) karşı 80 µg ml⁻¹ konsantrasyonunda geniş spektrumlu antifungal etki elde etmişlerdir. Bu çalışmanın *in vitro* ve *in vivo* denemelerinde *E. prunastri* etanol ekstresi ile her iki patojene karşı yüksek konsantrasyonlarda antifungal etki elde edilmiştir. *E. prunastri* %5 ve %10 konsantrasyonları *in vitro* koşullarda konidi gelişimini %100 oranında engellemiştir. Bu engelleyici etkinin genellikle asit özellikteki liken maddelerinin suda çözünmez ya da çok az çözünür olmasına rağmen, organik çözücülere daha fazla oranda geçmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, liken ekstrelerinin antifungal etkisi, patojenin hücre zarını bozarak ve parçalayarak, sitoplazmik materyallerin dışarı çıkması ve sonuçta patojenin ölümüne yol açması şeklinde olabilmektedir (Jeon et al., 2009).

Halama & Haluwin (2004), *E. prunastri*, *Hypogymnia physodes* ve *Cladonia portentosa*'nın aseton ekstresinin bitki patojeni funguslardan *B. cinerea*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium solani*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Stagonospora nodorum* ve *Ustilago maydis*'e karşı antifungal etkileri

araştırılmış ve *E. prunastri* ile *Hypogymnia physodes*'in *P. ultimum*, *U. maydis* ve *P. infestans*'ın miseliyal gelişimleri üzerinde *Cladonia* ekstresine göre daha etkili olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer veriler elde edilmiştir. Her iki patojen üzerinde *E. prunastri* etanol ekstresinin hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarda en yüksek antifungal etkiye sahip liken türü olduğu açıkça görülmüştür.

Aslan et al. (2006), *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *E. divaricata*, *E. prunastri* ve *Neofuscella pulla*'nın metanol ekstresinin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini *in vitro* koşullarda araştırdıkları çalışmalarında bazı bakteri ve funguslara karşı antimikrobiyal etkiye sahip oldukları sonucuna varmışlardır. Bu çalışmada *Aspergillus niger*'e karşı engelleyici etki bulunurken *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* ve *Penicillium* sp.'ye karşı bir engelleyici bir etkinin olmadığı belirtilmiştir. Sunulan çalışmada bu sonuçlara benzer olarak *E. prunastri* ekstresi *P. expansum*'a karşı *B. cinerea*'ya kıyasla daha düşük antifungal etki göstermiştir. *P. expansum*'un kontrol altına alınamamasının nedeni mantarın ısıya dayanıklı toksinler üretmesi ve hastalanan yerlerde çok fazla spor üreterek etrafa yayılabilmesi olarak düşünülmektedir.

Ranković et al. (2008)'nin *Hypogymnia physodes*, *Parmelia caperata*, *Physcia aipolia* ve *Umbilicaria polyphylla*'dan izole edilen giroforik asit, atranorin, usnik asit ve fisodik asidin *in vitro* koşullarda antimikrobiyal etkisini inceledikleri araştırma sonuçlarına göre 6 bakteri (*B. mycoides*, *B. subtilis*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus*) ve 10 fungus (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *B. cinerea*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor mucedo*, *Paecilomyces variotii*, *P. purpurescens*, *P. verrucosum* ve *Trichoderma harzianum*) türü arasında bakterilerin funguslara oranla daha yüksek bir duyarlılık gösterdiği gözlenmiştir. Bakteri hücrelerinin, fungus hücrelerine oranla daha hassas olması nedeni ile ekstrelerden daha fazla etkilendiği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda kullanılan türler arasında *E. prunastri*'nin yüksek oranda usnik asit içerdiği bilinmektedir. *B. cinerea* *P. expansum*'a oranla daha hassas bulunmuş, liken ekstrelerinin *B. cinerea* üzerinde daha etkili olduğu saptanmıştır.

Kosanić et al. (2012b), *Parmelia caperata*, *Parmelia sulcata* ve *Parmelia saxatilis*'in aseton ekstrelerinin antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser potansiyellerini test ettikleri çalışmada Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ile fungus olarak; *A. flavus*, *A. fumigatus*, *B. cinerea*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor mucedo*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium purpurescens*, *Penicillium verrucosum* ve *Trichoderma harsianum* türlerini incelemişlerdir. Funguslar için MIC, *B. cinerea* ve *C. albicans*'a karşı 3.12 mg mL^{-1} ile *A. flavus*, *A. fumigatus*, *P. purpurescens* ve *P. verrucosum* 'a karşı 25 mg L^{-1} arasında değişmektedir. Bu çalışmadan elde edilen bulgular ile mevcut çalışmanın uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Çalışmamızda kullanılan 3 liken ekstrelerinin %10'luk konsantrasyonlarının, *B. cinerea*'nın hem spor çimlenmesini hem de çim tüpü uzunluğunu tamamen engellediği belirlenmiştir. *P. expansum*' a karşı ise liken türleri arasında *B. fuscescens* ve *E. prunastri* %10'luk ekstresi spor çimlenmesi ve çim tüpü uzunluğunun tamamen engelleyebilmiştir. Ayrıca spor çimlenme oranları göz önüne alındığında *B. fuscescens*'in %5'lik konsantrasyonu *P. expansum* üzerinde *B. cinerea*'ya kıyasla daha az engelleyici etki göstermiştir.

Ranković & Kosanić (2012), *Lecanora atra*, *Lecanora muralis*, *Parmelia saxatilis*, *P. sulcata* ve *Parmeliopsis ambigua*'nın aseton, metanol ve su ekstreleri *in vitro* koşullarda 6 bakteri ve 10 mantar türüne karşı antimikrobal aktivitelerini belirlemek üzere araştırılmıştır. Genellikle, bakteriler arasında en hassas olan tür *Bacillus mycoides*, funguslar arasında ise *B. cinerea* ve *Candida albicans* olarak belirlenmiştir. Bu bulgulara paralel olarak bizim çalışmamızda da liken ekstrelerinin yüksek konsantrasyonlarının *B. cinerea*'nın hem spor çimlenmesini hem de çim tüpü gelişimini engellediği, bir başka deyişle çim tüpü uzunluğunda azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.

Kosanić et al. (2013), yaptıkları bir çalışmada, *E. prunastri* ve *P. furfuraceae* likenlerinin aseton ekstrelerini kimyasal kompozisyonu ve *in vitro* antimikrobiyal aktiviteyi MIC ile belirlemişlerdir. *P. furfuraceae* orta derecede antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterirken *E. prunastri* daha yüksek konsantrasyonlarda test edilen tüm mikroorganizmaları inhibe etmiştir. Bizim çalışmamızda da %10'luk konsantrasyonda *E. prunastri* spor çimlenmesini ve çim tüpü uzunluğunu tamamen engelleyebildiği tespit edilmiştir.

Kosanić et al. (2014), *Lecanora muralis*, *Parmelia saxatilis*, *Parmeliopsis ambigua*, *Umbilicaria crustulosa* ve *Umbilicaria polyphylla* metanol ekstralarının antimikrobiyal aktivitelerini, altı bakteri (*Bacillus mycoides*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve on mantar (*Klebsiella pneumoniae*, *Aspergillus flavus*, *B. cinerea*, *Candida albicans*, *Mucor mucedo* ve *Penicillium verrucosum*) türüne karşı MIC değerlerini belirledikleri çalışmalarında *U. polyphylla* 0,78-1,56 mg/mL arasında değişen MIC değerleri ile en aktif ekstre olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada liken ekstralarının *B. cinerea* üzerinde benzer bir sonuç gösterdiği tarafımızdan tespit edilmiştir. *B. fuscescens*, *E. prunastri*, *R. fraxinea* ekstralarının %10 konsantrasyonda, *in vitro* koşullarda *B. cinerea*'nın spor çimlenmesini engellediği ve bu etkinin istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu bulunmuştur.

Basile et al. (2015), *Xanthoria parietina* aseton ekstresinin ve sekonder metabolitlerinin antiproliferatif, antibakteriyel ve antifungal aktivitesi araştırıldığı çalışmada dokuz bakteri *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloaca* ve *Klebsiella pneumoniae* ve üç fungus suşu (*Candida albicans*, *B. cinerea* ve *Rhizoctonia solani*) antimikrobiyal aktivite için test edilmiştir. Test edilen funguslar arasında *Rhizoctonia solani* en hassas olan türdür. Bu çalışmada ise *B. cinerea*'nin *P. expansum*'a göre daha hassas bir tür olduğu belirlenmiştir. *In vitro* çalışmalarımıza göre, spor çimlenme oranlarına bakıldığında %10 *R. fraxinea* ekstresi 1. ve 2. denemelerde sırası ile *P. expansum* spor çimlenme oranları %59,66 ve %61 olarak kaydedilmiş iken aynı liken türü *B. cinerea*'ya karşı çimlenmeyi tamamen önleyebilmiştir.

Sariözlü et al. (2016), *Bryoria capillaris*'in aseton, metanol ve kloroform ekstraları ile barbatolik asit içeriğinin, *A. fumigatus* ve *S. rolfii*'nin sporlanmasını engellediğini, ekstraların MIC değerlerinin funguslar için 156,20-625 µg/ml arasında olduğunu bildirmişlerdir. Literatürde *B. fuscescens* ekstralarının antibakteriyel aktiviteleri üzerine çalışmalar bulunurken, *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı *B. fuscescens* etanol ekstresinin antifungal aktivitesine dair herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda *B.*

fuscescens'in *in vivo* koşullarda tüm patojenlere 12. saat uygulamalarında her iki konsatrasyonda da patojen gelişimini artırıcı yönde etkisi belirlenmiştir.

Aoussar et al. (2020), *E. prunastri*, *Ramalina farinacea* ve *Pseudevernia furfuracea* aseton ekstrelerinin kimyasal bileşimi ve sitotoksik, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini inceledikleri çalışmada; en güçlü antibakteriyel ekstrenin 0,039 ila 0,31 mg/mL arasında değişen MIC değerleri ile *P. furfuracea*'yi rapor etmişlerdir. Bu çalışmada *E. prunastri*'nin antibakteriyel etkisi dikkat çekici olmamasına rağmen, bizim çalışmamızda funguslara karşı en etkili liken türünün olarak tespit edilmiştir. Funguslar ökaryotik organizmalardır ve hücre zarını çevreleyen hücre duvarlarına ve organelleri çevreleyen zarlara sahip olmaları nedeni ile bakterilere oranla dış etkilere daha dayanıklı bir yapıdadırlar. *E. prunastri* ekstresinin bu fungus hücrelerini inhibe etmesine karşı, prokaryot canlılar olan bakterileri etkilememesi bakterilerin bu ekstredeki kimyasallara karşı daha seçici olduklarını düşündürmektedir.

Her iki patojene karşı liken türlerinin etkinliklerine bakıldığında sıralama *E. prunastri*, *B. fuscescens* ve *R. fraxinea* şeklinde tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan liken örneklerinden *E. prunastri* etanolde çözünen atranorin, kloroatranorin ve (+) usnik asit içerikleri ile en zengin sekonder metabolit içeriğine sahip liken türüdür. *B. fuscescens* ise fumarprotosetrarik asit ve atranorin içermektedir. Şahin et al. (2015), üç farklı *Ramalina* (*R. farinacea*, *R. fastigiata* ve *R. fraxinea*) türünün başlıca metabolitlerinin, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirledikleri çalışmada, *Ramalina* türlerinden farklı solventler kullanılarak ekstre edilen fumarprotosetrarik, lekanorik, evernik, stiktik ve usnik asit miktarları belirlemiş ve *R. fraxinea*'nin etanol ekstresinin liken asitlerinin içeriği bakımından en düşük ekstre çeşidi olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmalarının sonuçlarına göre, *R. fraxinea* etanol ekstresi sadece usnik asit içermektedir. Bu bulgu ile paralel olarak bizim çalışmamızda en etkisiz liken türü *R. fraxinea* olmuştur. Tüm deneme sonuçları birarada incelendiğinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda en etkili liken türü *E. prunastri* olmuştur. Çalışmamızın sonuçları, liken türleri arasında çok çeşitli liken asitleri içeren takson olmasıyla paralel olarak *E. prunastri*'nin engelleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

In vivo çalışmalarda, liken ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarının kurşuni ve mavi küf hastalıklarını engelleyici etkinlikleri değerlendirildiğinde, *B. cinerea*'ya karşı 12. saat uygulamalarında *E. prunastri* %10 ve %5'lik konsantrasyonlarının meyve üzerindeki patojen ile inokule edilmiş lezyon alanını kontrole kıyasla tamamen engellediği görülmüştür. *P. expansum*' a karşı ise *E. prunastri* %10 konsantrasyonunun 12. saat uygulamalarında tamamen bir engelleme görülmemiş, ancak fungusun lezyon alanını yüksek oranda azalttığı ve istatistiksel olarak diğer konsantrasyonlardan önemli ölçüde farklı olduğu bulunmuştur.

In vivo denemelerde, patojenlere karşı 0. saat uygulamalarında daha düşük etkiler gözlenmiştir. 12. saat uygulamalarından farklı olarak, 0. saat uygulamalarında her iki patojene karşı *E. prunastri*'nin tüm konsantrasyonlarının lezyon çapını tamamen engelleyemediği tespit edilmiştir. Bu sonucun liken ekstrelerinin patojen sporları dormant durumdayken daha dayanıklı bir formda olmaları sebebi ile ekstrelerden etkilenmediği, ancak, 12 saat sonrasında spor çimlenmiş bir forma dönüştüğünde daha dayanıksız bir hale gelerek ekstrelerden daha fazla oranda etkilendiğini düşündürmektedir. Bu bulgu SEM görüntüleri ile desteklenmiştir. SEM verileri ekstrelerin *in vitro* 12. saat uygulamalarının daha etkin olduğuna ilişkin hipotezimizi de desteklemektedir. Meyveye inokule edilen (0. saat) dinlenme (dormant) döneminde bulunan sporlar fungusun en dayanıklı organıdır. Meyveye patojen sporları inokule edildikten 12 saat sonra ise, sporlar çimlenmiş ve oluşan çim tüpü uygulamalara daha duyarlı hale gelmiştir. Bu nedenle ekstrelerin etkisi 0. saat uygulamasında oldukça düşükken, 12 saat uygulamasında yükselmiştir. Elde edilen tüm SEM sonuçları meyve materyali üzerinde lezyon çapı ölçülerek elde edilen veriler ile uyumludur.

0. saat uygulamalarında *B. cinerea* ve *P. expansum*'a karşı *B. fuscescens*'in tüm konsantrasyonları lezyon çapını artırıcı yönde bir etki sergilemiştir. Yani hiçbir antifungal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Çobanoğlu et al. (2010), *Alectia sarmentosa*, *B. fuscescens*, *Evernia divaricata*, *Platismatia glauca* ve *Ramalina farinacea* üç gram negatif bakteriye karşı antimikrobiyal aktivitleri açısından değerlendirmişlerdir. En yüksek antimikrobiyal etkiyi *Alectia sarmentosa*'da kaydetmişlerdir. *B. fuscescens*' in etkisi bizim çalışmamızla uyumlu şekilde etkisiz bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonuçları, liken ekstrelerinin armut meyvelerinde patojenlerin neden olduğu bozulmayı kontrol etme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, *P. expansum*'un neden olduğu mavi küf, kurşuni küf etmeni *B. cinerea*'ya kıyasla liken ekstrelerinden daha az etkilenmiş, 12. saat uygulamaları ise 0. saat uygulamalarına kıyasla daha yüksek etkinlik göstermiştir.

Liken ekstrelerinin etkisi arasındaki farklar, ekstrenin elde edildiği liken türlerinin sahip oldukları asit çeşitliliğine, ekstrenin yüzdesine ve uygulama zamanına bağlı olarak değişim göstermiştir. Ayrıca uygulama zamanı ile fungus sporlarının dormant durumda olması veya çimlenmenin başlamasının da uygulama etkinlik düzeyini değiştirdiği sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak, liken ekstrelerinin, insan sağlığına ve çevreye herhangi bir zararının veya riskinin bulunmaması, kalıntı problemine neden olmaması liken ekstrelerinin hasat sonrası hastalıklara karşı fungusitlere bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir. Araştırma kapsamında elde edilen sonuçlar ışığında, hasat sonu fungal hastalıkların entegre mücadelesi için ekstrelerin, fungusitlere alternatif olabilecek diğer kontrol yöntemleri ile beraber kullanımına yönelik ek çalışmalara ihtiyaç olduğunu ve bu konuda yeterli literatürün olmadığını düşünmekteyiz. Çalışmamız uluslararası literatürde liken ekstrelerinin depolanmış ürünleri enfekte eden önemli hasat sonu hastalıklarının mücadelesi amacıyla *in vivo* koşullarda yapılan ve sonuçların SEM incelemeleri ile desteklendiği ilk araştırma niteliğindedir.

KAYNAKLAR

- Abdallah, E.M. (2019). Evaluation of antimicrobial activity of a lichen used as a spice (*Platismatia glauca*). *Advancements in Life Sciences*, 6(3), 110-115.
- Abuiraq, L., Kanan, G., Wedyan, M., & El-Wahl, A. (2015). Efficacy of extracts of some lichens for potential antibacterial activity. *Research Journal Pharmaceutical Biological and Chemical Sciences*, 6(1), 318-331.
- Açıkgöz, B., Karaltı, İ., Ersöz, M., Coşkun, Z.M., Çobanoğlu, G., & Sesal, C. (2013). Screening of antimicrobial activity and cytotoxic effects of two *Cladonia* species. *Zeitschrift für Naturforschung*. 68(5-6), 191-197.
- Ağırman, B., Akalın, M.N., & Erten, H. (2019). Meyve ve Sebzelerde Hasat Sonrası Fungal Hastalıkların Antagonistik Mayalar İle Biyokontrolü. *GIDA*, 44(1), 31-49. <https://doi.org/10.15237/gida.GD18082>
- Ahmad, R., Borowiec, P., Falck-Ytter, A.B., & Strætknvern, K.O. (2017). Extraction, solubility and antimicrobial activity of (-) usnic acid in ethanol, a pharmaceutically relevant solvent. *Natural Product Communications*, 12(7), 1101-1104. <https://doi.org/10.1177/1934578X1701200725>
- Akpınar, A.U., Öztürk, Ş, & Sımırtaş, M. (2009). *Cladonia rangiformis* Hoffm., *Peltigera neckerii* Hepp ex Müll. Arg., *Peltigera rufescens* (Weiss) Humb. on soil bacteria in natural conditions. *Plant, Soil and Environment*, 55(4), 154-158. <https://doi.org/10.17221/1616-PSE>
- Amandine, D., Mambu, L., Champavier, Y., Chaleix, V., Gloaguen, V., & Millot, M. (2020). Antibacterial activity of the lichens *Usnea florida* and *Flavoparmelia caperata* (Parmeliaceae). *Natural Product Research*, 34(23), 3358-3362. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1561678>
- Aoussar, N., Laasri, E., Bourhia, M., Manojlovic, N., Mhand, R.A., Rhallabi, N., Ullah, R., Shahat, A.A., Noman, O.M., Nasr, F.A., Almarfadi, O.M., El Mzibri, M., Vasiljević, P., Benbacer, L., & Mellouki, F. (2020). Phytochemical Analysis, Cytotoxic, Antioxidant, and Antibacterial Activities of Lichens. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, <https://doi.org/10.1155/2020/810453>
- Aravind, S.R., Sreelekha, T.T., Kumar, B.S.D., & Mohandas, C. (2014). Characterization of three depside compounds from a Western Ghat lichen *Parmelia erumpens* Kurok with special reference to antimicrobial and anticancer activity, *RSC Advances*, 4(65), 3432-34643. <https://doi.org/10.1039/c4ra04137b>
- Aslan, A., Güllüce, M., Sökmen, M., Adıgüzel, A., Şahin, F., & Özkan, H. (2006). Antioxidant and antimicrobial properties of the lichen *Cladonia foliacea*, *Dermatocarpon miniatum*, *Evernia divaricata*, *Evernia prunastri*, and *Neofuscelia*

pulla. Pharmaceutical Biology, 44(4), 247-252.
<https://doi.org/10.1080%13880200600713808>

- Azman, A.A., Nadiah, N., Rosandy, A.R., Alwi, A., Kamal, N., Khalid, R.M., & Abu Bakar, M. (2021). Antimicrobial Activity and LC-MS Data Comparison from Lichen *Parmotrema praesorediosum* in Bangi, Selangor, Malaysia, *Sains Malaysiana*, 50(2), 383-393. <https://doi.org/10.17576/jsm-2021-5002-10>
- Basile, A., Rigano, D., Loppi, S., Di Santi, A., Nebbiosa, A., Sorbo, S., Conte B., Paoli, L., De Ruberto, F., Molinari, A.M., Altucci, L., & Bontempo, P. (2015). Antiproliferative, Antibacterial and Antifungal Activity of the Lichen *Xanthoria parietina* and Its Secondary Metabolite Parietin. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 7861-7875. <https://doi.org/10.3390/ijms16047861>
- Bate, P.N.N., Ayuk, A.E., Nyongbelai K.D., Babiaka, S.B., Kukah, C., & Ngemenya, M.N. (2020). In vitro activity against multi-drug resistant bacteria and cytotoxicity of lichens collected from Mount Cameroon. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 614-619. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2018.09.001>
- Berber, D. (2020). Antibacterial activities of lichen derived extracts against different *Bacillus* species from soak liquor samples. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 115(3), 96-104. <https://doi.org/10.34314/jalca.v115i03.1627>
- Berber, D., Türkmenoğlu, İ., & Sesal, N.C. (2020). Antibacterial potential of six lichen species against *Enterococcus durans* from Leather Industry. *The Johnson Matthey Technology Review*, 64(4), 480-488. <https://doi.org/10.1595/205651320X15942856494595>
- Bézivin, C., Tomasi, S., Lohézic-Le Dévéhat, F., & Boustie, J. (2003). Cytotoxic Activity of Some Lichen Extracts on Murine and Human Cancer Cell Lines. *Phytomedicine*, 10(6-7), 499-503. <https://doi.org/10.1078/094471103322331458>
- Borges, D.F., Lopes, E.A., Moraes, A.R.F., Soares, M.S., Visôto, L.E., Oliveira, C.R.R., & Valente, V.M.M. (2018). Formulation of botanicals for the control of plant-pathogens: A review. *Crop Protection*, 110, 135-140.
- Burkholder, P.R., Ewans, A.W., Veigh, M., & Thornton, H.K. 1944. Antibiotic Activity of Lichens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 30(9), 250-255. <https://doi.org/10.1073/pns.30.9.250>
- Candan, M., Yılmaz, M., Tay, T., Kıvanç, M., & Türk. H. (2006). Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Xanthoparmelia pokornyi* and its gyrophoric and stenosporic acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 61(5-6), 319-323. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-5-603>
- Candan, M., Yılmaz, M., Tay, T., Erdem, M., & Türk., AÖ. (2007). Antimicrobial activity of extracts of the lichen *Parmelia sulcata* and its salazinic acid constituent. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 62(7-8), 619-621.

- Cankılıç, M.Y., Sariözlü, N.Y., Candan, M., & Tay, F. (2017). Screening of antibacterial, antituberculosis and antifungal effects of lichen *Usnea florida* and its thamnolic acid constituent. *Biomedical Research-India*, 28(7), 3108-3113.
- Cansaran, D., Atakol, O., Halıcı, M.G., & Aksoy, A. (2006 a). HPLC Analysis of Usnic Acid in Some *Ramalina* Species from Anatolia and Investigation of their Antimicrobial Activities. *Pharmaceutical Biology*, 45(1), 77-81. <https://doi.org/10.1080/13880200601028503>
- Cansaran D., Çetin, D., Halıcı, M.G., & Atakol, O. (2006 b). Determination of Usnic Acid in Some Rhizoplaca Species from Middle Anatolia and Their Antimicrobial Activities. *Zeitschrift für Naturforschung*, 61(1-2), 47-51.
- Chauhan, R., & Abraham, J. (2013). *In vitro* antimicrobial potential of the lichen *Parmotrema* sp. extracts against various pathogens. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(7), 882-885
- Çeker, S. Orhan, F., Sezen, S., Güllüce, M., Özkan, H., Aslan, A., & Ağar, G. (2018). Anti-mutagenic and anti-oxidant potencies of *Cetraria aculeata* (Schreb.) Fr., *Cladonia chlorophaea* (Flörke ex Sommerf.) Spreng. and *Cetrelia olivetorum* (Nyl.) W.L. Culb. & C.F. Culb.). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 17(1), 326-335.
- Çetin, H., Tufan-Çetin, Ö., Türk, A.Ö., Tay, T., Candan, M., Yanıkoğlu, A., & Sümbül, H. (2008). Insecticidal Activity of Major Lichen Compounds, (-) and (+)-usnic asid, Against the Larvae of House Mosquito, *Culex pipiens*. L. *Parasitology Research*, 102(6), 1277-1279. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-0905-8>
- Çetin, H., Tufan-Çetin, Ö., Türk, A.Ö., Tay, T., Candan, M., Yanıkoğlu, A., & Sümbül, H. (2012). Larvicidal activity of some secondary lichen metabolites against the mosquito *Culiseta longiareolata* Macquart (Diptera: Culicidae). *Natural Product Research*, 26(4), 350-355. <https://doi.org/10.1080/14786411003774296>
- Çobanoğlu, G., Sesal, C., Gökmen, B., & Çakar, S. (2010). Evaluation of The Antimicrobial Properties of Some Lichens. *South Western Journal of Horticulture, Biology and Environment*, 1(2), 153-158.
- Çobanoğlu, G., Sesal, C., Açıkgöz, B., & Karaltı, İ. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Physcia aipolia*, *Xanthoria parietina*, *Usnea florida*, *Usnea subfloridana* and *Melanohalea exasperata*. *Modern Phytomorphology*, 10, 19-24. <https://doi.org/10-5281/zenodo.155349>
- Danzi, D., Ladu, G., Prieto, C.V., Bullon, A.G., Petretto, G., Fancello, F., & Venditti, T. (2020). Effectiveness of essential oil extracted from pompia leaves against *Penicillium digitatum*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(9), 3639-3647. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10394>

- Davide, S., D., Muscat, A., Brincat, J-P., Gatt, R., Decelis, S., & Valdramidis, V. (2016). A Comprehensive Review of the Pear Fungal Diseases. *International Journal of Fruit Science*, 16(4), 351-377. <https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1178621>
- de Rodriguez, D.J., Garcia, R.R., Castillo, F.D.H., Gonzalez, C.N.A., Galindo, A.S., Quintanilla, J.A.V., & Zuccolotto, L.E.M. (2011). *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Industrial crops and products*, 34(1), 960-966. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.03.001>
- Devi, K.V., Bhargav, E., Swaruparani, G., & Jyothi, M.V. (2021). Comparative Evaluation of Phytochemical Constituents by GC-MS and Antitubercular & Antimicrobial Potential of *Ceiba pentandra* and *Parmotrema perlatum* against Resistant Strains. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(35A), 197-203. <https://doi.org/10.9734/JPRI/2021/v33i35A31889>
- Dieu, A., Mambu, L., Champavier, Y., Chaleix, V., Sol, V., Gloaguen, V., & Millot, M. (2020). Antibacterial activity of the lichens *Usnea florida* and *Flavoparmelia caperata* (Parmeliaceae). *Natural product research*, 34(23), 3358-3362. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1561678>
- Emsen, B., Yildirim, E., Aslan, A., Anar, M., & Ercişli, S. (2012). Insecticidal effect of extracts of *Cladonia Foliacea* (Huds.) Wild. and *Flavoparmelia caperata* (L.) Hale against adults of Grain Weevil, *Sitophilus Granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 22(2), 145-149.
- Esimo, C.O., & Adiwku, M.U. (1999). Antimicrobial Activity and Cytotoxicity of *Ramalina farinacea*. *Fitoterapia*, 70(4), 428-431. [https://doi.org/10.1016/SO367-326X\(99\)00054-4](https://doi.org/10.1016/SO367-326X(99)00054-4)
- FAO (2021). FAOSTAT (<http://faostat.fao.org/>)
- Felczykowska, A., Pastuszek-Skrzypczak, A., Pawlik A., Bogucka, K., Herman-Antosiewicz, A., & Guzow-Krzemińska, B. (2017). Antibacterial and anticancer activities of acetone extracts from *in vitro* cultured lichen-forming fungi. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1819-8>
- Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., & Romanazzi, G. (2013). Pre- and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 78, 133-138. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.12.004>
- Gautam, A.K., Yadav, D., Bhagyawant, S.S., Singh, P. K., & Jin, J. (2021). Lichen: A comprehensive review on Lichens as a natural sources exploring nutritional and biopharmaceutical benefits. *Progress in Nutrition*, 23(3). <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.9833>

- Goel, M., Dureja, P., Rani, A., Uniyal, P.L., & Laatsch, H. (2011). Isolation, characterization and antifungal activity of major constituents of the Himalayan lichen *Parmelia reticulata* Tayl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(6), 2299-2307. <https://doi.org/10.1021/jf1049613>
- Grujićić, D. Stosić, I., Kosanić, M., Stanojković, T., Branislav, R., & Milosević-Djordjević, O. (2014). Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*. *Cytotechnology*, 66(5), 803-813. <https://doi.org/10.1007/s10616-013-9629-4>
- Gunasekaran, S., Rajan, V.P., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Samsudin, M. W., & Din, L.B. (2016). Antibacterial and Antioxidant Activity of Lichens *Usnea rubrotincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and Their Chemical Constituents. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(1), 1-13. <https://doi.org/10.17576/mjas-2016-2001-01>
- Gülçin, I., Oktay, M., Küfrevioğlu, O.I., & Aslan., A. (2002). Determination of Antioxidant Activity of Lichen *Cetraria islandica* (L) Ach. *Journal of Ethnopharmacology*, 79(3), 325-329. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00396-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00396-8)
- Güllüce, M., Aslan, A., Sökmen, M., Şahin, F., Adıgüzel, A., Açar, G., & Sökmen, A. (2006). Screening the antioxidant and antimicrobial properties of the lichens *Parmelia saxatilis*, *Plasmatia glauca*, *Ramalina polymorpha* and *Umbilicaria nylanderiana*. *Phytomedicine*, 13(7), 515-521. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2005.09.008>
- Halama, P., & Haluwin. C.V. (2004). Antifungal activity of lichen extracts and lichenic acids. *Biocontrol*, 49(1), 95-107. <https://doi.org/10.1023/B:BICO.0000009378.31023.ba>
- Hoda, S., & Vijayaraghavan, P. (2015). Evaluation of antimicrobial prospective of *Parmotrema perlatum* hexane extract. *International Journal of pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 4(2), 47-53.
- Honda, N.K., Pavan, F.R., Coelho, R.G., De Andrade Leite, S.R., Micheletti, A.C., Lopes, T.I.B., Misutsu, M.Y., Beatriz, A., Brum, R.L., & Leite, C.Q.F. (2010). Antimycobacterial activity of lichen substances. *Phytomedicine*, 17(5), 328-332. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.07.018>
- Idamokoro, E.M., Masika, P.J., Muchenje, V., Falta, D., & Green, E. (2014). In-vitro antibacterial sensitivity of *Usnea barbata* lichen extracted with methanol and ethyl-acetate against selected *Staphylococcus* species from milk of cows with mastitis. *Archives Animal Breeding*, 57(25), 1-9. <https://doi.org/10.7482/0003-9438-57-025>
- Ingólfssdóttir, K., Chung, A.C., Skúlason, V.G., Gíssurarson, S. R., & Vilhelmsdóttir, M. (1998). Antimycobacterial Activity of Lichen Metabolites *in vitro*. *European*

- Jeon, H-S., Lökös, L. Han, K.S., Ryu, J-A., Kim, JA., Koh J-Y., & Hur, J-S. (2009). Isolation of lichen forming fungi from hungarian lichens and their antifungal activity against fungal pathogens of hot pepper anthracnose. *The Plant Pathology Journal*, 25(1), 38-46. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2009.25.1.038>
- Jha, B.N., Shrestha, M., Pandey, D.P, Bhattarai, T., Bhattarai, H.D, & Paudel, B. (2017). Investigation of antioxidant, antimicrobial and toxicity activities of lichens from high altitude regions of Nepal. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1797-x>
- Kahrıman, N., Tosun, G., Yaylı, B., Yazıcı, K., Karaoğlu, S.A., & Yaylı, N. (2012). Volatile Constituents and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from *Cladonia rangiformis* Hoffm. and *Cladonia furcata* (Huds.) Schrad. *Asian Journal of Chemistry*, 24(4), 1442-1444.
- Karagöz, Y., Karagöz, K., Dadaşoğlu, F., & Öztürk-Karagöz, B. (2018). *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo & D. Hawksw. extract fractions have potent antimicrobial activity in liquid-But not in solid media. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(6), 4293-4297.
- Kosanić, M., Ranković, B., & Stanojković, T. (2012a). Antioxidant, antimicrobial, and anticancer activity of 3 *Umbilicaria* species. *Journal of Food Science*, 77(1) T20-5. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.2459.x>
- Kosanić, M., Ranković, B., & Stanojković, T.P. (2012b). Antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of three *Parmelia* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(9), 1909-1916. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5559>
- Kosanić, M., Manojlović, N., Janković, S., Stanojković, & T., Ranković, B. (2013). *Evernia prunastri* and *Pseudoevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.034>
- Kosanić, M., Šeklić, D., Marković, S., & Ranković, B. (2014). Evaluation of antioxidant, antimicrobial and anticancer properties of selected lichens from Serbia. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 9(1), 273-287.
- Kosanić, M., Ranković, B., Stanojković, T., Stosić, I., Grujčić, D., & Milosević-Djordjević, O. (2016). *Lasallia pustulata* lichen as possible natural antigenotoxic, antioxidant, antimicrobial and anticancer agent. *Cytotechnology*, 68(4), 999-1008. <https://doi.org/10.1007/s10616-015-9856-y>
- Kosanić, M., Ristić, S., Stanojković, T., Manojlović, N., & Ranković, B. (2018). Extracts of five *Cladonia* lichens as sources of biologically active compounds. *Farmacia*, 66(4), 644-651. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2018.4.13>

- Letwin, L., Malek, L., Suntres, Z., & Christopher, L. (2020). Cytotoxic and antibiotic potential of secondary metabolites from the lichen *Umbilicaria muhlenbergii*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(14), 1516-1527. <https://doi.org/10.2174/1389201021666200504114515>
- Londone-Bailon, P., Sanchez-Robinet, C., & Alvarez-Guzman, G. (2019). In vitro antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of methanol-acetone extracts from Antarctic lichens (*Usnea antarctica* and *Usnea aurantiaco-atra*), *Polar Science*, 22. <https://doi.org/10.1016/j.polar.2019.08.003>
- Madamombe, I.T., & Afolayan, A.J. (2003). Evaluation of Antimicrobial activity of extracts from south african *Usnea barbata*. *Pharmaceutical Biology*, 41(3), 199-202. <https://doi.org/10.1076/phbi.41.3.199.15089>
- Mallavadhani, U.V., Buddu, R., Rathod, B.B., & Setty, P.R. (2018). Stereoselective synthesis of the lichen metabolite, (+) montagnetol and its congeners as antimicrobial agents. *Synthetic communications*, 48(23), 2992-2999. <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1519076>
- Mamoci, E., Cavoski, I., Simone, V., Mondelli, D., Al-Bitar, L., & Caboni, P. (2011). Chemical composition and in vitro activity of plant extracts from *Ferula communis* and *Dittrichia viscosa* against postharvest fungi. *Molecules*, 16(3), 2609-2625. <https://doi.org/10.3390/molecules16032609>
- Manojlović, N.T., Solujić, S., Sukdolak, S., & Krstić, L.J. (2000). Isolation and Antimicrobial Activity of Anthraquinones from Some Species of the Lichen Genus *Xanthoria*. *Journal of The Serbian Chemical Society*, 65(8), 555-560. <https://doi.org/10.2298/JSC0008555M>
- Manojlović, N., Solujić, S., & Sukdolak, S. (2002). Antimicrobial Activity of an Extract and Anthraquinones from *Caloplaca schaeereri*. *Lichenologist*, 34, 83-85. <https://doi.org/10.1006/lich.2001.0365>
- Manojlović, N., Solujić, S., Sukdolak, S., & Milosev., M. (2005). Antifungal activity of *Rubia tinctorum*, *Rhamnus frangula* and *Caloplaca cerina*. *Fitoterapia*, 76(2), 244-246. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2004.12.002>
- Manojlović, N., Ranković, B., Kosanić, Vasiljević, P., & Stanojković, T. (2012a). Chemical composition of three *Parmelia* lichens and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of some their major metabolites. *Phytomedicine*, 19(13), 1166-1172. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.07.012>
- Manojlović, N., Vasiljević, P., Masković, P., Jusković, M., & Bogdanović-Dusanović, G. (2012b). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of Lichen *Umbilicaria cylindrica* (L.) Delise (Umbilicariaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/452431>

- Maurya, I.K. Singh, S., Tewari, R., Tripathi, M., Upadhyay, S., & Joshi, Y. (2018). Antimicrobial activity of *Bulbothrix setschwanensis* (Zahlbr.) Hale lichen by cell wall disruption of *Staphylococcus aureus* and *Cryptococcus neoformans*. *Microbial pathogenesis*, 115,12-18. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.015>
- Mazid, M.A., Hasan, C.M., & Rashid, M.A. (1999). Antibacterial Activity of *Parmelia kamstchandalis*. *Fitoterapia*, 70(6), 615-617. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(99\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(99)00104-5)
- Meela, M.M., Mdee, L.K., Masoko, P., & Eloff, J.N. (2019). Acetone leaf extracts of seven invasive weeds have promising activity against eight important plant fungal pathogens. *South African Journal of Botany*, 121, 442-446.
- Mehta, S., & Sharma, K. (2016). Natural resources: an ecofriendly and safer alternate to control plant diseases. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(11):4327-4340. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(11\).4327-40](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(11).4327-40)
- Mendili, M., Essghaier, B., Seaward, M.R.D., & Khadri, A. (2021). *In vitro* evaluation of lysozyme activity and antimicrobial effect of extracts from four Tunisian lichens: *Diploschistes ocellatus*, *Flavoparmelia caperata*, *Squamarina cartilaginea* and *Xanthoria parietina*. *Archives of Microbiology*, 203, 1461-1469. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-02129-x>
- Millot, M., Girardot, M., Dutreix, L., Manbu, L., & Imbert, C. (2017). Antifungal and Anti-Biofilm Activities of Acetone Lichen Extracts against *Candida albicans*. *Molecules*, 22(4). <https://doi.org/10.3390/molecules22040651>
- Mitrović, T., Stamenković S., Cvetković, V., Radulović, N., Mladenović, M., Stanković, M., Topuzović, M., Radojević, I., Stefanović, O., Vasić, S., & Comić, L. (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents. *Experimental and clinical sciences*, 13, 938-953
- Nugraha, A.S., Untari, L.F., Laub, A., Porzel, A., Franke, K., & Wessjohann, L.A. (2020). Anthelmintic and antimicrobial activities of three new depsides and ten known depsides and phenols from Indonesian lichen: *Parmelia cetrata* Ach. *Natural Product Research*, 35(23), 5001-5010. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1761361>
- Nxumalo, K.A., Aremu, A.O., & Fawole, O.A. (2021). Potentials of Medicinal Plant Extracts as an Alternative to Synthetic Chemicals in Postharvest Protection and Preservation of Horticultural Crops: A Review. *Sustainability*, 13(11). <https://doi.org/10.3390/su13115897>
- Oh, J. M., Kim, Y. J., Gang, H-S., Han, J., Ha, H-H., & Kim, H. (2018). Antimicrobial Activity of Divaricatic Acid Isolated from the Lichen *Evernia mesomorpha* against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 23. <https://doi.org/10.3390/molecules23123068>

- Onaran, A., & Bayan, Y. (2016). Antifungal Activity of *Liquidambar orientalis* L. and *Myrtus communis* L. Against Some Plant Pathogenic Fungi. *Series A. Agronomy*.
- Oran, S., Şahin, S., Şahintürk, P., Öztürk, Ş., & Demir, C. (2016). Antioxidant and antimicrobial potential, and HPLC analysis of stictic and usnic acids of three *Usnea* Species from Uludag Mountain (Bursa, Turkey). *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(2), 527-535.
- Özyiğitoğlu, G., Açıkgöz, B., & Sesal, N.C. (2017). Comparison of antibacterial and antibiofilm activity properties of *Hypogymnia tubulosa* (Schaer.) Hav. lichen extracts from different locations in Turkey. *Mycospore*, 8(8), 994-1002. <https://doi.org/10.5943/mycospore/8/8/2>
- Öztürk, İ., Erçişli, S., Kalkan, F., & Demir, B. (2009). Some chemical and physico-mechanical properties of pear cultivars. *African Journal of Biotechnology*, 8(4), 687-693.
- Öztürk, B., Karakaya, O., Küçüker, E., Özkan, Y., & Yıldız, K. (2019). The Effects of Foliar Iron Treatments (+Fe) on Fruit Quality of Different Pear Cultivars. *Erwerbs-Obstbau*, 61,373-378. <https://doi.org/10.1007/s10341-019-00442-4>
- Pandey, A., Qidwai, A., Pandey, M., Kumar, R., Shukla S.K., & Dikshit, A. (2018). Bactericidal screening and estimation of free radical scavenging activity of fruticose lichen *Cladonia scabriuscula* Delise (Nyl.) from Gopeshwar, Uttarakhand, India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(7), 2847-2851. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9\(7\).2847-51](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.9(7).2847-51)
- Patriche, S., Ghinea, I.O., Adam, G., Gurau, G., Furdui, B., Dinica, R.M., Rebegea, L.F., & Lupoaie, M. (2019). Characterization of Bioactive Compounds from Romanian *Cetraria islandica* (L) Ach. *Revista de Chimie*, 70(6), 2186-2191.
- Paudel, B., Bhattarai, H.D., Lee, H.K., Oh, H., Shin, H.W., & Yim, J.H. (2010). Antibacterial activities of ramalin, usnic acid and its three derivatives isolated from the antarctic lichen *Ramalina terebrata*. *Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 65(1-2), 34-38.
- Pérez, P., Rojas, J., Morales, A., Vizcaya, M., & Lugo, C. (2017). Insecticidal activity of lichen extracts from *Physcia* sp. in *Tecia solanivara* larvae. *Ciencia e Ingenieria*, 38(3), 265-270.
- Plaza, C.M., de Salazar, C.P., Vizcaya, M., Rodriguez-Castillo, C.G., Medina-Ramirez, G., & Plaza, R.E. (2017). Potential antifungal activity of *Cladonia* aff. *rappii* A. Evans. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 5(5), 301-309.
- Ramamoorthy, P.K.T., LakshmanaShetty, R.H., Devidas, S., Mudduraj, V.T., & Vinayaka, K.S. (2012). Antifungal and Cytotoxic Activity of *Everniastrum cirrhatum* (Fr.) Hale. *Chiang Mai Journal of Science*, 39(1), 76-83.

- Ranković, B., Mišić, M., & Sukdolak, S. (2007a). Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Lasallia pustulata*, *Parmelia sulcata*, *Umbilicaria crustulosa* and *Umbilicaria cylindrica*. *Microbiology*, 76(6), 723-727. <https://doi.org/10.1134/S0026261707060112>
- Ranković, B., Mišić, M., Sukdolak, S., & Milosavljević, D. (2007b). Antimicrobial activity of the lichens *Collema cristatum*, *Ochrolechia androgyna*, *Physcia aipolia* and *Physcia caesia*, *Italian Journal of Food Science*, 19(4), 461-469.
- Ranković, B., Mišić, M., & Sukdolak, S. (2008). The antimicrobial activity of substances derived from the lichens *Physcia aipolia*, *Umbilicaria polyphylla*, *Parmelia caperata* and *Hypogymnia physodes*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 24,1239-1242. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9580-7>
- Ranković, B., Mišić, M., & Sukdolak, S. (2009). Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla*. *Biologia*, 64(1), 53-58. <https://doi.org/10.2478/s11756-009-0007-9>
- Ranković, B., & Kosanić, M. (2012). Antimicrobial activities of different extracts of *Lecanora atra*, *Lecanora muralis*, *Parmelia saxatilis*, *Parmelia sulcata* and *Parmeliopsis ambigua*, *Pakistan Journal of Botany*, 44(1), 429-433.
- Ranković, B., Kosanić M., & Stanojković, T. (2014). *Stereocaulon paschale* lichen as antioxidant, antimicrobial and anticancer agent. *Farmacia*, 62(2), 306-317.
- Rehman, S., Andleeb, S., Niazi, A.R., & Ali, S. (2018). Estimation of trace elements and in vitro biological activities of lichens extracts. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(4), 1407-1416.
- Resende, D.I.S.P., Pereira-Terra, P., Inácio, A.S., daCosta, P.M., Pinto, E., Sousa, E., & Pinto, M.M.M. (2018). Lichen Xanthones as Models for New Antifungal Agents. *Molecules*, 23(10). <https://doi.org/10.3390/molecules23102617>
- Ristić, S., Ranković, B., Kosanić, M., Stanojković, T., Stamenković, S., Vasiljević, P., Manojlović, I., & Manojlović, N. (2016a). Phytochemical study and antioxidant, antimicrobial and anticancer activities of *Melanelia subaurifera* and *Melanelia fuliginosa* lichens. *Journal of Food Science and Technology*, 53(6), 2804-2816. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2255-3>
- Ristić, S., Ranković, B., Kosanić M., Stamenković, S., Stanojković, T., Sovrlić, M., & Manojlović, N. (2016b). Biopharmaceutical Potential of Two *Ramalina* Lichens and their Metabolites. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17. <https://doi.org/10.2174/1389201017666160401144825>
- Rowe, J.G., Gimenez, M.D.G., & Rodriguez, M.T.S. (1999). Some Lichen Products Have Antimicrobial Activity. *Zeitschrift für Naturforschung*, 54(7-8), 605-609.

- Saenz, M.T., Garcia, M.D., & Rowe, J. (2006). Antimicrobial Activity and Phytochemical Studies of Some Lichens From South of Spain. *Fitoterapia*, 77(3), 156–159. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2005.12.001>
- Sardella, D., Muscat, A., Brincat, J.P., Gatt, R., Decelis, S., & Valdramidis, V. (2016). A Comprehensive Review of the Pear Fungal Diseases. *International Journal of Fruit Science*, 16(4), 351-377. <https://doi.org/10.1080/15538362.2016.1178621>
- Sargsyan, R., Gasparyan, A., Tadevosyan, G., & Panosyan, H. (2021). Antimicrobial and antioxidant potentials of non-cytotoxic extracts of corticolous lichens sampled in Armenia. *AMB Express*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01271>
- Sarıözlü, N.Y., Cankılıç, M.Y, Candan, M., & Tay, T. (2016). Antimicrobial activity of lichen *Bryoria capillaris* and its compound barbatolic acid. *Biomedical Research-India*, 27, S419-S423.
- Savale, S.A., Pol, C. S., Khare, R., Verma, N., Gaikwad, S., Mandal, B., & Behera, B.C. (2016). Radical scavenging, prolyl endopeptidase inhibitory, and antimicrobial potential of a cultured Himalayan lichen *Cetrelia olivetorum*. *Pharmaceutical Biology*, 54(4), 692-700. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1072567>
- Sertaş, S., & Öztürk, A. (2020). Bazı Armut Klon Anaçları Üzerine Aşılı Armut Çeşitlerinin Fidan Gelişim Performanslarının Belirlenmesi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(4), 842-850.
- Shahi, S.K., Shukla, A.C., Dikshit, A., & Uperti, D.K. (2001). Broad Spectrum Antifungal Properties of the Lichen *Heterodermia leucomela*. *Lichenologist*, 33, 177-179. <https://doi.org/10.1006/lich.2000.0303>
- Shahi, S.K., Patra, M., Dikshit, A., & Uperti, K. (2003). *Parmelia cirrhatum*: A potential source of broad spectrum natural antifungal. *Phytotherapy Research*, 17(4), 399-400. <https://doi.org/10.1002/ptr.1123>
- Schemeda-Hirschmann, G., Tapia, A., Lima, B., Pertino, M., Sortino, M., Zacchino, S., de Arias, A.R., & Feresin, G.E. (2008). A new antifungal and antiprotozoal depside from the Andean lichen *Protousnea Poepigii*. *Phytotherapy Research*, 22(3), 349-355. <https://doi.org/10.1002/ptr.2321>
- Shcherbakova, A., Strömstedt, A.A., Göransson, U., Gnezzdilov, O., Turanov, A., Boldbaatar, D., Kochkin, D., Ulrich-Merenich, G., & Koptina, A. (2021). Antimicrobial and antioxidant activity of *Evernia prunastri* extracts and their isolates. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 37(8), 129. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03099-y>
- Shrestha, G., Raphael, J., Leavitt, S.D., & Clair, L.L.S. (2014). In vitro evaluation of the antibacterial activity of extracts from 34 species of North American lichens. *Pharmaceutical Biology*, 52(10), 1262-1266. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.889175>

- Shrestha, G., Thompson, A., Robinson, R., & St Clair, L.L. (2016). *Letharia vulpina*, a vulpinic acid containing lichen, targets cell membrane and cell division processes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 413-418. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1038754>
- Shiromi, P.S.A.I., Hewawsam, P.R., Jayalal, R.G.U. Rathnayake, H., Mudiyansele, W., Wijayarathne, D.G.B., & Wanniarachchi, D. (2021). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Two Sri Lankan Lichens, Parmotrema rampoddense, and Parmotrema tinctorum against Methicillin-Sensitive and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2021/9985325>
- Sisodia, R., Goel, M., Verma, S., Rani, A., & Dureja, P. (2013). Antibacterial and antioxidant activity of lichen species *Ramalina roesleri*. *Natural Product Research*, 27(23), 2235-2239. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.811410>
- Smith, C.W., Aptroot, A., Coppins, B.J., Fletcher, A., Gilbert, O.L., James, P.W., & Wolseley, P.A. (2009). *The lichens of great Britain and Ireland*. London: British Lichen Society.
- Stundzińska-Sroka, E., Hołderna-Kędzia, E., Galanty, A., Bylka, W., Kacprzak, K., & Ćwiklińska, K. (2015). *In vitro* antimicrobial activity of extracts and compounds isolated from *Cladonia uncialis*. *Natural Product Research*, 9(24). <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1005616>
- Sun, L., Sun, S., Cheng, A., Wu, X., Zhang, Y., & Lou, H. (2009). *In vitro* activities of retigeric acid b alone and in combination with azole antifungal agents against *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1586–1591. <https://doi.org/10.1128/AAC.00940-08>
- Susanti, A.E., Ratnakomala, S., Manguwardoyo, W., & Lisdiyanti, P. (2019). Antimicrobial Activity of Lichens-Associated Actinomycetes Strain LC-23. *ICBBB*, <https://doi.org/10.1145/3314367.3314386>
- Şahin, S., Oran, S., Şahintürk, P., Demir, C., & Öztürk, Ş. (2015). *Ramalina* lichens and their major metabolites as possible natural antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Food Biochemistry*, 39(4), 471-477. <https://doi.org/10.1111/jbc.12142>
- Taş, İ., Yıldırım, A.B., Özyiğitoğlu, G.C., Türker, H., & Türker, A.U. (2019). Lichens as a promising natural antibacterial agent against fish pathogens, *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 39(1), 40-48.
- Tay, T., Türk, AÖ., Yılmaz, M., Türk, H., & Kıvanç, M. (2004). Evaluation of the antimicrobial activity of the acetone extract of the lichen *Ramalina farinacea* and its (+) - usnic acid, norstictic acid, and protocetraric acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung*, 59(5-6), 384-388.

- Tripathi, P., & Dubey, N.K. (2004). Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 32(3), 235-245. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2003.11.005>
- Tozatti, M.G., Ferreira, D.S., Flauzino, L.G.B., Moraes, T.D., Martins C.H.G., Groppo, M., Silva, M.L.A.E., Januario, A.H., Pauletti, P.M., & Cunha., W.R. (2016). Activity of the Lichen *Usnea steineri* and its Major Metabolites against Gram-positive, Multidrug-resistant Bacteria. *Natural Product Communications*, 11(4), 493-496.
- Türk, H., Yılmaz, M., Tay, T., Türk, AÖ., & Kıvanç, M. (2006). Antimicrobial activity of extracts of chemical races of the lichen *Pseudevernia furfuracea* and their physodic acid, chloroatranorin, atranorin, and olivetoric acid constituents. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*, 61(7-8), 499-507.
- Uysal, H., Altun, D., & Aslan, A. (2009). *Drosophila Melanogaster*'de *Lobaria Pulmonaria* (L.) Hoffm. likeninin ömür uzunluğu üzerine etkisi. *Tübav Bilim Dergisi*, 2(3), 271-276.
- Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., & Schempp, C.M., (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14(7-8), 508-516. <https://doi.org/10.106/j.phymed.2006.12.013>
- Wei, XL., Jeon, HS., Han, KS, Koh., J.H., & Hur, J.S. (2008). Antifungal activity of lichen-forming fungi against *Colletotrichum acutatum* On Hot Pepper. *Plant Pathology Journal*, 24(2), 202-206. <https://doi.org/105423/PPJ.2008.24.2.202>
- Wirth, V. (1995). *Die Flechthen Baden-Württembergs*.(Teil 1-2) Germany: Eugen Ulmer GmbH & Co.
- Yadav, H., Nayaka, S., & Dwivedi, M. (2021). Analytics on Antimicrobial Activity of Lichen Extract. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(2), 701-708. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.2.21>
- Yılmaz, M., Türk, AÖ, Tay, T., & Kıvanç, M. (2004). The Antimicrobial Activity of Extracts of the Lichen *Cladonia foliacea* and Its (-) -Usnic Acid, Atranorin, and Fumarprotocetraric Acid Constituents. *Zeitschrift für Naturforschung*, 5(3-4), 249-254.
- Yoon, M., Cha, B., & Kim, J. (2013). Recent Trends in Studies on Botanical Fungicides in Agriculture. *The Plant Pathology Journal*, 29(1),1-9. <https://doi.org/10.5423/PPJ.RW.05.2012.0072>
- Zambare, V.P., & Christopher, L.P. (2012). Biopharmaceutical potential of lichens. *Pharmaceutical Biology*, 50(6), 778-798. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.633089>

Zrnzević, I., Stanković, M., Jovanović, V.S., Mitić, V., M., Đorđević, A., Zlantanović, I., & Stojanović, G. (2017). *Ramalina capitata* (Ach.) Nyl. acetone extract: HPLC analysis, genotoxicity, cholinesterase, antioxidant and antibacterial activity. *EXLCI Journal*, 16, 679-687. <https://doi.org/10.17179/excli2017-301>

