

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Tavşan Topuğu (*Ruscus aculatus* L.) Bitkisinden Elde
Edilen Ekstraktların Bazı Bakteriyal Balık
Patojenlerine Karşı Antibakteriyal Etkilerinin
Araştırılması**

Hasibullah BİKZAD

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Ocak, 2024

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

**Tavşan Topuğu (*Ruscus aculatus* L.) Bitkisinden Elde Edilen
Ekstraktların Bazı Bakteriyal Balık Patojenlerine Karşı
Antibakteriyal Etkilerinin Araştırılması**

Hasibullah BİKZAD

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

Bu Yüksek lisans Tezi 22/01/2024 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Değerlendirilmiş ve Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Doç. Dr. İbrahim DEMİRKALE (Danışman)
: Prof. Dr. Suat DİKEL
: Dr. Öğr. Üyesi Faik Sertel SEÇER

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Tarafından Desteklenmiştir.

ProjeNo: FYL-2023-15846

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----|
| ÖZ | I |
| ABSTRACT..... | II |
| GENİŞLETİLMİŞ ÖZET | III |
| TEŞEKKÜR..... | V |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | VI |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | VII |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR..... | 5 |
| 2.1. Tavşan Topuğunun Coğrafi Dağılımı ve Taksonomisi | 5 |
| 2.2. Tavşan Topuğu Bitkisinin Antibakteriyel Özellikleri | 10 |
| 3. MATERYAL VE METOT | 13 |
| 3.1. Materyal | 13 |
| 3.2. Metot | 13 |
| 3.2.1. Tavşan topuğu bitkisinin eldesi..... | 13 |
| 3.2.2. Ekstraktların eldesi | 13 |
| 3.2.3. Tavşan topuğu'nun Kimyasal karakterizasyonunun belirlenmesi | 15 |
| 3.2.4. Tavşan topuğu'nun ekstraktının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi | 15 |
| 3.2.4. İstatistiki Analizler | 17 |
| 4. BULGULAR VE TARTIŞMA | 19 |
| 4.1. Bulgular..... | 19 |
| 4.1.1. Elde edilen Tavşan Topuğu bitkisinin kimyasal karakterizasyonu | 19 |
| 4.1.2. Tavşantopuğu Ekstraktının Antibakteriyel özelliği..... | 23 |
| 4.2. Tartışma | 27 |
| 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER | 31 |
| KAYNAKLAR | 33 |
| ÖZGEÇMİŞ | 37 |

**Tavşan Topuğu (*Ruscus aculatus* L.)
Bitkisinden Elde Edilen Ekstraktların Bazı
Bakteriyal Balık Patojenlerine Karşı Antibakteriyal
Etkilerinin Araştırılması**

Hasibullah BİKZAD

Danışman: Doç. Dr. İbrahim DEMİRKALE

Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı

ÖZ

Bu çalışma da Tavşan Topuğu (*Ruscus aculatus*)'un iki farklı çözücü (ethanol ve methanol) içersisinde yaprak ve tüm bitkiden elde edilen ekstraktların 5 farklı balık patojen bakterisi olan *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı laboratuvar ortamında in vitro olarak antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. İki farklı solvent ile elde edilen dört ekstrak karakterizasyonunun yapılması amacı ile GC-MS de analize alınmıştır. İki farklı çözücü ile iki farklı bitki bölgesinden elde edilen ekstraktlar 5µl, 10µl, 25µl ve 50µl olarak boş disklerle emdirilerek kurutulmuştur. Patojen bakteriler disk difüzyon yöntemi prensipleri doğrultusunda 0,6 McFarlant yoğunluğunda hazırlanarak besi yerlerine ekimi yapıldıktan sonrasında diskler yerletirilmiştir. 24 ve 48 saat sonra diskler etrafında oluşan zonların çapları ölçülmüştür. Yapılan çalışma sonunda *Yersinia ruckeri* için en etkili ekstrak Methanol tüm bitki, *Aeromonas hydrophila* için methanol yaprak, *Lactococcus garvieae* için methanol yaprak ve tüm bitki, *Vibrio anguillarum* için etanol tüm bitki ve methanol yaprak ve *Edwardsiella tarda* için ise etanol yaprak olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ekstraktların yüzdesel olarak en fazla bulunan maddeler sırasıyla etanol yaprak, etanol tüm bitki, metanol yaprak, metanol tüm bitki; Phytol 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl-,2,7-Octadiene-1,6-diol, 2,6-dimethyl/1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-; n-Hexadecanoic acid, 1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-, 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxybutyl)-3,5,5-trimethyl-; Butane, 2,2-dimethyl/1,2-Dimethylaziridine/Oxalic acid, isobutyl pentyl ester 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-; Butane, 2-isothiocyanato-; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, Hexane, 2,2,5-trimethyl-,Acetic acid olarak tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Tavşan topuğu, *Ruscus aculatus*, antibakteriyel, ekstrak, disk difüzyon testi

**Investigation of Antibacterial Effects of Extracts
Obtained From Rabbit Heel (*Ruscus aculatus* L.) Against
Some Bacterial Fish Pathogens**

Hasibullah BİKZAD

Advisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim DEMİRKALE

Department of Aquaculture

ABSTRACT

In this study, the antibacterial properties of extracts obtained from the leaves and whole plant of rabbit heel (*Ruscus aculatus*) in two different solvents (ethanol and methanol) against 5 different fish pathogenic bacteria *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* and *Edwardsiella tarda* were investigated in vitro in the laboratory. Four extracts obtained by two different solvent were analysed in GC-MS for characterisation. The extracts obtained from whole plant and leaf, with two different solvents were packaged in 5µl, 10µl, 25µl and 50µl empty discs. Pathogenic bacteria were prepared at a density of 0.6 McFarlant in accordance with the principles of disc diffusion method and the discs were placed after drying. After 24 and 48 hours, the diameters of the zones formed around the discs were measured. At the end of the study, the most effective extract for *Yersinia ruckeri* was methanol whole plant, for *Aeromonas hydrophila* methanol leaf, for *Lactococcus garvieae* methanol leaf and whole plant, for *Vibrio anguillarum* ethanol whole plant and methanol leaf and for *Edwardsiella tarda* ethanol leaf. In addition, ethanol leaf, ethanol whole plant, methanol leaf, methanol whole plant, methanol leaf, methanol whole plant were the most abundant substances in percentages of the extracts, respectively; Phytol 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl-,2,7-Octadiene-1,6-diol, 2,6-dimethyl/1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-; n-Hexadecanoic acid, 1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-, 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxybutyl)-3,5,5-trimethyl-; Butane, 2,2-dimethyl/1,2-dimethylaziridine/Oxalic acid, isobutyl pentyl ester 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-; Butane, 2-isothiocyanato-; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, Hexane, 2,2,5-trimethyl-, Acetic acid.

Keywords: Butcher's broom, *Ruscus aculatus*, antibacterial, extract, disc diffusion test.

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Bu çalışma tavşan topuğu bitkisinin bakteriyel balık patojenleri olan *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı elde edilen ekstraksiyonunun laboratuvar ortamında antibakteriyel etkisinin araştırılması amacı ile yapılmıştır. Tavşan topuğu bitkisi akdenize kıyısı olan ülkelerde orman içlerinde çok fazla büyümeyen, 25-50 cm boyutlarında kırmızı pembe meyveleri olan çok yıllık bir bitkidir. Tavşan topuğu bitkisi yüzyıllardır doğal ilaç olarak birçok amaç için kullanılmaktadır. Osmaniye ili sınırları içerisinde yer alan Zorkun Yaylası yolu üzerinden toplanan bitkiler laboratuvar ortamına getirilmiş ve yıkanarak temizlenmiştir. Arkasından temizlenen bitkiler iki guba ayrılmış ve gubun bir tanesindeki bitkilerin yaprakları ayrılmıştır. Yapraklardan ve tüm bitkiden 10'ar g alınarak 100 ml etanol ve metanol kullanılarak vida kapaklı cam şişeler içerisine konularak 7 gün boyunca karanlık ortamda bekletilmişlerdir. Elde edilen maserasyon, filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve liyofilizatör ile etanol ve metanol uzaklaştırılıp ekstraktları elde edilmiştir. Ekstrak ve çözücü olarak kullanılan etanol ve metanol karışımları 5 ml kalıncaya kadar uçurulmuştur. Elde edilen ekstraktların 2 ml si GCMS'de içerik analizi için ayrılmış geriye kalan 3 ml disk difüzyon yöntemi için saklanmıştır. Saklama işlemleri buzdolabında +4°C de yapılmıştır. GCMS'te yapılan karakterizasyonda, etanolde yapılan yaprak ekstraksiyonda en fazla oranda Phytol 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl-,2,7-Octadiene-1,6-diol, 2,6-dimethyl/1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-; etanolde yapılan tüm bitki ekstraksiyonda n-Hexadecanoic acid, 1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-, 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxybutyl)-3,5,5-trimethyl-;methanolde yapılan yaprak ekstraksiyonunda; Butane, 2,2-dimethyl/1,2-Dimethylaziridine/Oxalic acid, isobutyl pentyl ester 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-, methanolde yapılan tüm bitki ekstraksiyonunda Butane, 2-isothiocyanato-; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, Hexane, 2,2,5-trimethyl-,Asetik asit tespit edilmiştir.

Elde edilen ekstraktlar disk difüzyon yöntemi için hazırlanan boş disklere 3'er tekerrür olmak üzere 5µl, 10µl, 25µl ve 50 µl oranlarında mikropipet aracılığı ile eklenerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işlemi bittikten sonra diskler steril petrilere yerleştirilerek +4°C'de saklanmıştır. Bakterilerin çoğalması ve disk difüzyon testi için Müller Hilton Agar kullanılmıştır. Ayrıca bakterilerin çoğaltılması amacı ile Müller Hilton Broth 50 ml falkon tüpler içerisine hazırlanmış ve bakteri ekimi yapılarak çalkalayıcı içerisinde inkübe edilmiştir. 24 saat sonra kültürler 5000 rpm de 10 dakika santrifüz edilmiş, arkasından dipte kalan kısım besi yeri alınarak serum fizyolojik ile yıkanmış ve yeniden 3 tekrarlı olmak üzere yıkama işlemi yapılmıştır. Elde edilen kültür besi yerlerine McFarlant kullanılarak hazırlanan 0,6 oranındaki patojen bakteriler besi yerlerine ekimi yapılmıştır. Daha önceden hazırlanmış olan ekstraktlı diskler ve kıyaslamada kullanılacak olan ticari antibiyotik diskleri hazırlanan besi yerlerine yerleştirilmiş ve 24°C'de 24 saat ve 48 saat inkübe edilmiştir. 48

saat sonunda diskler etrafında oluşan zonlar dijital kumpas yardımı ile ölçülerek kayıt altına alınmış ve istatistiki olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çalışma sonunda *Yersinia ruckeri*ye karşı en etkili ekstrakt metanol tüm bitki en etkili doz ise 50 µl olarak, *Aeromonas hydrophila*ya karşı en etkili ekstrakt metanol yaprak en etkili doz ise 50 µl, *Lactococcus garvieae*'ye karşı en etkili ekstraktlar metanol yaprak ve tüm bitki en etkili doz ise 50 µl, *Vibrio anguillarum*'a karşı en etkili ekstrakt etanol yaprak ve tüm bitki en etkili doz ise 50 µl ve *Edwardsiella tarda*'ya karşı en etkili ekstrakt etanol yaprak en etkili doz ise sadece 50 µl olarak bulunmuştur.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisan tez çalışmam boyunca hiçbir konuda yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. İbrahim DEMİRKALE'ye, tez çalışmamın planlanmasında, tez çalışmamın kurulumu ve yürütülmesinde her türlü desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Miray ETYEMEZ BÜYÜKDEVECİ'ye sonsuz teşekkürlerimle.

Bu tez Çukurova üniversitesi Rektörlüğü, Bilimsel araştırmalar ve Projeler Birimi Tarafından FYL-2023-15846 proje kodlarıyla desteklenmiştir.



ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 1.1. Türkiye’deki Balık Üretim Miktarları (son 4 yıl) | 2 |
| Çizelge 3.1. Bitki ekstraktının hazırlanması | 14 |
| Çizelge 4.1. Etanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşenleri | 19 |
| Çizelge 4.2. Etanol tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşenleri..... | 20 |
| Çizelge 4.3. Methanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşenleri..... | 21 |
| Çizelge 4.4. Methanol tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşenleri..... | 22 |
| Çizelge 4.5. Ekstraktların Disk Dügüzyon yöntemi ile ölçülen değerleri..... | 27 |



ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 3.1. Tavşan Topuğu Bitkisi ve meyvesi..... | 13 |
| Şekil 3.2. Ekstraksiyonun hazırlanması..... | 14 |
| Şekil 3.3. Ekstraktın eldesinde kullanılan solventin evapore edilerek saflaştırma | 15 |
| Şekil 3.4. Ekstrakt emdirilmiş diskler..... | 16 |
| Şekil 4.1. Etanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşen gafiği | 20 |
| Şekil 4.2. Etanol Tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşen gafiği | 21 |
| Şekil 4.3. Methanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşen gafiği..... | 22 |
| Şekil 4.4. Methanol Tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşen gafiği..... | 23 |
| Şekil 4.5. <i>Yersinia ruckeri</i> 'ye karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi | 24 |
| Şekil 4.6. <i>Vibrio anguillarum</i> 'a karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi | 24 |
| Şekil 4.7. <i>Lactococcus garvieae</i> 'ye karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi | 25 |
| Şekil 4.8. <i>Edwardsiella tarda</i> 'ya karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi..... | 25 |
| Şekil 4.9. <i>Aeromonas hydrophila</i> 'ya karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi..... | 26 |
| Şekil 4.10. 5 farklı bakteriyel balık patojenine karşı kullanılan ticari antibiyotik disk difüzyon testleri | 26 |

1. GİRİŞ

Karasal alanlarda bulunan birçok bitki insanlık tarihi boyunca besin kaynağının yanı sıra çok farklı amaçlar için kullanılmıştır. Avlanma, tedavi ve ısınma gibi birçok faaliyet alanında insanlığa hizmet etmiştir. Geleneksel tıp alanında birçok bitki içerdiği maddeler sebebi ile çok farklı alanlarda kullanılmıştır. Ülkemiz birçok farklı bitki türüne evsahipliği yapmakla birlikte birçok endemik türü de florasında bulundurmaktadır. Günümüzde sentetik olarak hazırlanan birçok ilacın yan etkilerinden dolayı tıbbi aromatik bitkiler hem besin maddesi hem de sağlık alanında yararlanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre tıbbi aromatik bitkilerin sayısı 20,000 civarında olduğu bildirilmektedir. (Faydaoğlu ve Süpürücüoğlu, 2011).

Tıp alanında kullanılan ilaçların oldukça fazla miktarı bitkisel kaynaklı ekstraktlardan oluşmaktadır (Özbek, 2005). Geleneksel tıpta farklı yöntemler kullanılarak hazırlanan ilaçlar kanserden kronik hastalıkların tedavisine kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (Şarışen ve Çalışkan, 2005).

Özellikle insan ve hayvan tedavisinde kullanılan sentetik ilaçlar yan etkileri ve çevre ile etkileşimlerinden dolayı oluşan sorunların ortadan kaldırılması maksadıyla yeniden bitkisel kaynaklı tedavi yöntemleri ön plana çıkmaya başlamıştır (Özbek, 2005). Dolayısı ile doğada farklı bitkiler içerisinde bulunan etken maddelerin ekstraksiyonlarının yapılması ile alternatif tedavi yöntemleri geliştirilmektedir.

Küresel nüfus artışına bağlı olarak her geçen gün gıda ihtiyacı artarak devam etmektedir. Bununla birlikte küresel ısınma ve çevresel etkilerine ek olarak insan faktörünün de eklenmesi ile güvenilir gıda ihtiyacı artmaktadır. Artan bu ihtiyacın karşılanması alternatif üretim yöntemlerinin geliştirilmesini gerektirmektedir.

Global olarak değerlendirildiğinde artan nüfus ile doğru orantılı olarak protein ihtiyacı hızla artmaktadır. Ülkelerin ve toplumların bireysel gıda maddelerine olan ihtiyaçları davranışsal olarak; yaşam biçimi, tüketim alışkanlıkları, gelir düzeyleri vb. gibi birçok faktörle bağlıdır. Bu açıdan bakıldığında insan gıdası olarak su ürünlerinin kullanımı gelecekte oldukça ulaşılabilir olacağı düşünülmektedir.

Akuakültür alanında yapılan üretim ve tüketim alışkanlıkları doğrultusunda arz talep dengesini şekillendirmektedir. Bununla birlikte global olarak arz ve talep dengesini sayısal şekillendirmektedir. (Gümüş ve Yılmaz, 2011). Ülkemizde neredeyse yarım asırdır yapılan balık üretimi her geçen gün alternatif balık türlerinin eklenmesi ile artmaya devam etmektedir (Karataş, 2016).

Her geçen gün artan su ürünleri akuakültür üretimi dünyada 2020 yılı verilerine göre 178 milyon tona ulaştığı görülmektedir. Bu üretimin bir kısmı insani gıda üretimi bir kısmı ise balık unu, balık yağı ve gıda dışı sektörlere hammadde olarak sunulmaktadır. (FAO, 2022'a). 2019 yılında kişi

balık tüketimi farklı coğrafya ve tüketim alışkanlıkları göz önüne alındığından 5,4 kg ile 26,5 kg arasında değişmektedir. (FAO, 2022b).

Çizelge 1.1. Türkiye’deki Balık Üretim Miktarları (son 4 yıl)

| | Avcılık (ton) | Yetiştiricilik (ton) | Toplam Üretim (ton) | Yetiştiriciliğin toplam üretime oranı |
|------|------------------|-------------------------|------------------------|--|
| 2019 | 463.168 | 373.356 | 836.524 | 44,61 |
| 2020 | 364.400 | 421.411 | 785.811 | 53,61 |
| 2021 | 328.165 | 471.686 | 799.851 | 58,97 |
| 2022 | 335.003 | 514.805 | 849.808 | 60,57 |

Türkiye’deki toplam su ürünleri üretimi 2022 yılı verileri 849.808 tondur (Çizelge 1). Bunun 514.805 tonu yetiştiricilik çalışmalarından elde edilmiştir. Bu üretimin 368 bin 742 tonu denizel ortamlarda, 146 bin 63 tonu ise iç su ortamlarında gerçekleşmiştir. Yapılan çalışmalarda iç su ortamlarında en çok üretimi yapılan balı türü 145 bin 649 ton ile gökkuşuğu alabalığı, denizel ortamlarda ise 156 bin 602 ton ile levrek ve 152 bin 469 ton ile çipura türleri olmuştur (TUİK,2022).

Su ürünlerinin yetiştiricilik ortamlarına alınmasıyla birlikte canlının optimum yaşamsal gereksinimleri sağlanmaya çalışılmıştır. İhtiyaç duydukları gıda ve su kalitesinin sağlanmadığı durumlarda ortaya çıkan hastalık problemlerine karşı diğer hayvanlarda kullanılan medikamentler kullanılmaya başlanmış ve deneme yanılma yoluyla başlayan bu çalışmalar her geçen gün özel tedavi yöntemleri ve ilaçların gelişmesini sağlamıştır. Fakat kullanılan bu kimyasallar balığın büyümesi, gelişmesi üremesi gibi metabolik faaliyetlerin baskılanmasının yanı sıra çevre ile etkileşimlerinde oldukça oneli hale gelmiştir. Kullanılan bu medikamentler su canlıları için olduğu kadar çevre ile de olumsuz yönde etkileşim içerisinde olan maddelerdir. Deneme yanılma yolu ile ve nedeni ve çözümü ile ilgili herhangi araştırma yapılmadan uygulanan bu tedavi yöntemleri oldukça olumsuz sonuçlara neden olmuştur.

Su canlılarında hastalıklara neden olan birçok etmen sıralanabilir bu etmenleri gruplara ayırdığımızda; bakteriyel hastalıklar, viral hastalıklar, mantar hastalıkları, parazitlerin neden olduğu hastalıklar, balıklarda rastlanabilecek diğer hastalıklar şeklinde sınıflandırılabilir (Cengizler, 2006).

Birçok canlıda olduğu gibi su ürünlerinde yetiştiriciliği yapılan balık, kabuklu, yumuşakça gibi türlerde bakteriyel enfeksiyonlar ciddi sağlık problemlerine, üretim miktarının ve verimliliğinin düşmesine en önemlisi ise ölümlere sebebiyet vermektedirler. Balıklarda genellikle gam negatif bakteri grupları hastalık yapma özelliği göstermektedirler. Halihazır da bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotikler sentetik olarak üretilmektedir. Genellikle diğer omurgalı canlıların yetiştiriciliğinde karşılaşılan hastalık etmenlerine karşı kullanılan medikamentler balıklar içinde kullanılabilir. Yalnız uygulama dozları süreleri ve yöntemleri değişkenlik

göstermektedir. Kullanım prosedürlerine uyulmaması gibi durumlarda ortamda bulunan diğer bakteriler üzerinde direnç gelişimine sebebiyet vermektedirler. Tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklerin ortamda bulunan patojen veya patojen olmayan bakteriler üzerinde direnç gelişimine sebebiyet vermeleri sebebi ile antibiyotik kullanımı kısıtlanmaktadır.

Ülkemizde ciddi anlamda ekonomik öneme sahip olan balık yetiştiriciliği çalışmalarında karşılaşılan enfeksiyonlara karşı alternatif doğal medikamnetlerin geliştirilmesi oldukça önem arz etmektedir. Antibiyotiğe maruz kalan canlıları tüketen ve besin zincirinde en üst tabakada bulunan insanlar için patojen olan bakterilerinde direnç geliştirmesi istenmeyen bir durumdur. Bu amaçla ülkemizde en fazla miktarda görülen bakteriyel patojenlerin bir kısmı için tavşan topuğu bitkisinin antibakteriyel etkisinin araştırılması amacı ile kurgulanmış bir tez çalışması yürütülmüştür.





2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde tavşan topuğu bitkisinin biyokimyasal özellikleri, alternatif kemoterapötik olarak kullanım alanları, diğer beşeri hastalıkların tedavisi amacı ile kullanımı, coğrafi dağılımı hakkında bilgiler verilecektir.

2.1. Tavşan Topuğunun Coğrafi Dağılımı ve Taksonomisi

Alem : Plantae
Klad : Angiosperms(kapalı tohumlular)
Klad : Monocots(Bir çenekliler)
Takım : Asparagales
Familiya : Ruscaceae
Cins : *Ruscus*
Tür : *Ruscus aculatus*

Tavşan topuğu bitkisinin biyokimyasal yapısı

Thomas ve ark. (2014), *Ruscus aculatus* L.'un İngilteredeki dağılımlarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada İngilterenin güney kısımlarında oldukça yoğun olarak bulunduğunu, kuzeye doğru çıkıldıkça bulunurluğunun azaldığını bildirmişlerdir

Rodrigues ve ark. (2021) *Ruscus aculatus* L.'un Portekiz Bragança'dan topladıkları bitkiler ile yaptıkları çalışmayı yayımlamışlardır. Aynı zamanda bioaktif özellikleri ile ilgili yaptıkları çalışma da Nisan 2019'da Valpaços, Portuğl'daki ormanlık alanlar ve çitlerin içinden topladıkları, toprak üstü kısımları, kökleri ve rizomları, biyoaktif özellikleri bakımından karakterize etmişlerdir. Bu amaçla beyin homojenatlarında lipid peroksidasyonunun tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ile inhibisyonu ve oksidatif hemoliz inhibisyon deneyi (OxHLIA) uygulamışlardır. Sitotoksik aktivite MCF-7 (meme adenokarsinomu), NCI-H460 (küçük hücreli dışı akciğer karsinomu), HeLa (servikal karsinom) ve HepG2 (hepatosellüler karsinom) insan tümör hücre hatları ve ayrıca tümör olmayan bir hücre hattı (domuz karaciğer primer hücreleri, PLP2) kullanılarak test edilmiştir. Ayrıca, toprak üstü kısım (kladodlar veya laminer gövdeler ve yan dallar) ve yeraltı organları (kökleri olan rizomlar). Hidroetanolik ekstraktlar ve sulu (infüzyonlar ve decoctions) bitkinin belirtilen iki kısımlarından elde ettikleri ekstraktlardan çoklu dirençli klinik bakteri suşları (*Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Metisiline Dirençli Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis* ve *Pseudomonas aeruginosa*) antimikrobiyal aktiviteyi taramak için kullanılmış ve antioksidan aktivite iki farklı in vitro deneyle değerlendirilmişlerdir.

Tüm ekstraktlar antioksidan aktivite ve değerlendirilen bakterilerin bazılarını inhibe etme potansiyeli göstermiştir; hava kısmının infüzyonu (MCF7 ve HepG2 hatları için) ve kaynatma ekstraktları (CF7 hattı) hariç, kalan tüm ekstraktlar test edilen hücrelerin inhibisyonunda etkili sonuçlar sağladığını ve toprak üstü kısmının sulu ekstraktları ile kök ve rizomların infüzyonları tümör olmayan birincil hücre kültüründe sitotoksik etkiye sahip olduklarını bulmuşlardır.

Taşkın ve ark, (2020) *Ruscus aculatus* L.'un in vitro antioksidan, anti-ürez ve antikolinesterazı değerlendirmişlerdir. Bu amaçla tavşan topuğundan elde ettikleri ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP, ABTS/ TEAC ve CUPRAC yöntemleri kullanarak araştırmışlardır. Ek olarak, anti-ürez ve antikolinesteraz farklı ekstraktların aktiviteleri Indophenol ve Ellman testleri ile karşılaştırılmışlardır. (Soxhlet cihazı ile yapılan ekstraksiyonda kloroform kullanılarak elde edilen ekstraktlar daha güçlü antioksidan etki göstermiştir. (DPPH, FRAP, CUPRAC) ve antikolinesteraz aktivitesini diğer ekstraktlara göre daha iyi etki göstermiştir. Ayrıca maserasyon yönteminde etanol kullanılarak elde edilen ekstraktın en güçlü aktiviteyi gösterdiği bulmuşlardır. Anti-ürez aktivitesi; farmakolojik etkileri nedeniyle (antioksidan, antikolinesteraz ve anti-ürez etkisi kloroform kullanılarak soxhlet yöntemiyle elde edilen ve maserasyon yönteminde etanol kullanılarak elde edilen ekstraktların ilaç ve gıda endüstrisi için doğal bir kaynak olabileceğini bildirmişlerdir.

Edziri ve ark (2020). *Ruscus hypophyllum*'un yapraklarının ekstraktlarındaki polifenolik ve flavonoid içeriğini değerlendirmişlerdir. Antioksidan aktivite α , α -difenil- β -pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis-3-etilbenzthiazoline-6-sülfonik asit (ABTS) testleri ile değerlendirilmiştir. *Ruscus* ekstraktlarının antikoagülan aktivitesi, protrombin zamanı (PT) kullanılarak in vitro olarak değerlendirilmiştir. Antibakteriyel aktivite çok sayıda önemli bakteriye karşı test edilmiştir. Ayrıca, etil asetat ve kloroform ekstraktları önemli antioksidan Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (SARM), *Acinetobacter imipeneme dirençli* (IMP/R), *P. aeruginosa* imipeneme dirençli (IMP/R) ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üreten *E. cloacae* gibi dirençli bakterilere karşı antibakteriyel aktivite (BLSE) ile 0,125 ve 0,5 mg/mL arasında değişen minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) değerlendirdirilmiştir. Etil asetat ve kloroform kullanılarak elde edilen tavşan topu ekstraktları en yüksek toplam fenol içeriğine sahiptir (sırasıyla 74,76 mg EAG/g ve 73,89 mg EAG/g) ve flavonoid içeriği 40 ve 32,43 mg EC/g, Etil asetat ile elde edilen ekstraktın GC-MS analizi ile sırasıyla %16,41 ve %10,72 oranlarında oksijenli seskiterpenler ve hidrokarbon diterpenlerin varlığını doğrulamıştır, ancak kloroform ile elde edilen ekstraktı oksijenli seskiterpenler açısından zengindir (monoterpenler ve oksijenli diterpenler, sırasıyla %6,19 ve %3,27'lik yüzdelerle). Test edilen ekstraktlar arasında, etil asetat ile yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktlar ile yapılan analizlerde en iyi antioksidan ve antikoagülan aktiviteleri sonucunu bildirmişlerdir.

Daniari ve ark (2020), *Ruscus aculatus*'un toprak üstü kısımlarının hidroalkolik ekstraktının antinosiseptif ve anti-inflamatuar etkilerini değerlendirmişlerdir. Ayrıca, bu bitki 150 ve 300 mg/kg/bw dozlarında formalin kaynaklı kronik ağrının kontrol gubuna kıyasla önemli ölçüde

azalmasına neden olmuştur ($P<0.05$). *Ruscus saculatus* L'nin 150 ve 300 mg/kg dozlarında, morfin gubundaki %97'lik inhibisyona kıyasla kronik ağrının inhibisyonu sırasıyla %71 ve %94 olmuştur. Bu deneysel çalışmalarda 23-25 g ağırlığında 80 erkek NMRI fare (6-8 hafta) üzerinde çalışma gerçekleştirmişlerdir. Hayvanlar rastgele 5 guba ayrılmıştır. Kontrol gubu (distile su), Pozitif kontrol gubu (ağrı testinde morfin 10 mg/kg/bw ve inflamatuvar testte deksametazon 15 mg/kg/bw) ve *Ruscus aculatus* L'nin 75, 150 ve 300 mg/kg/bw hidroalkolik ekstresini alan üç grup Ağrı formalin testi ile değerlendirilmiş ve inflamasyon araştırması ksilen ile indüklenen kulak ödemi ile yapılmıştır ve *Ruscus aculatus* L'nin hidroalkolik ekstresi, kontrol gubuna kıyasla 300mg/kg/bw'de akut ağrıyı önemli ölçüde azaltmıştır ($P<0,05$). Sonuç olarak İnhibisyon yüzdesi akut ağrı için %60 ve morfin gubunda %85 bulmuşlardır.

Kebeli (2021), *Ruscus aculatus*'un *Ruscus hypoglossum*, *Ruscus racemosus* ve *Ruscus aculatus* türlerinin kültüre alınmaları, çoğaltma ve yetiştirme tekniklerinin belirlenmesi ve kesme yeşillik olarak özellikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada İstanbul-Beykoz çevresinde doğal kesiminde yayılış değerlendirme araştırılması hedeflenmiştir. Ayrıca doğal habitatlarından toplanan bitkilerde mikoriza inokulasyonunun ve farklı gölgeleme koşullarının etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalarda mikoriza inokulasyonu ve farklı gölgeleme seviyelerinin (kontrol, %50, %70 ve %90) sürgün sayısı, sürgün boyu, sürgün çapı, kladot sayısı ve yan dallanma gibi bazı bitkisel özellikler üzerine etkileri belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlar (sürgün boyu hariç) üç tür içinde mikoriza inokulasyonu yapılmış %70 gölgeleme altında yetişen bitkilerden alınmıştır. İlâveten mikoriza inokulasyonu ve %90 gölgeleme uygulamaları sürgün uzunluğunu kontrol bitkilerine göre *R. aculatus* türünde 18,6 cm artırarak 50 cm'ye, *R. racemosus* türünde 13,6 cm artışla yaklaşık 39 cm'ye ve *R. hypoglossum* türünde 16,3 cm artışla 39,2 cm'ye çıkarmışlardır. Ayrıca rizom ile çalışan çoğaltmada mikoriza ve yetiştirme ortamının (Torf:Perlit 3:1, Torf:Bahçe toprağı 1:1 ve Torf:Perlit:Bahçe toprağı 4:1:1) sürgün sayısı, sürgün boyu ve sürgün çapı üzerine etkileri test edilmiştir. Tüm denemelerde farklı yetiştirme ortamlarının bitkisel özellikler üzerine etkileri türlere göre değişkenlik göstermekle birlikte en iyi sonuçlar T:P ortamından elde edilmiştir ve *Ruscus aculatus* türünde kurulan tohumla çoğaltma denemesinde sıcak su uygulaması, mekanik aşındırma yöntemleri ile promalin (0, 1500, 3000 ve 6000 ppm), sodyum nitroprusid (SNP) (0, 100 ve 200 μ M) ve KNO_3 (0, 4 ve 8 mg/L) uygulamalarının etkileri incelenmiştir. Kontrolde %50 olan çimlenme oranı 8 mg/L KNO_3 ön uygulaması ile %68'e, 100 μ M SNP ön uygulaması ile %65'e ve 48 h 1500 ppm promalin daldırma ön uygulaması ile %64'e deneyle değerlendirmişlerdir. Çalışmada son olarak, farklı gölgeleme (%0, 50, 70, 90) koşulları ve mikoriza uygulamasının sürgünlerin vazo ömrü üzerine etkileri ortaya çıkarılmıştır. *Ruscus* türleri arasında en uzun vazo ömrü 106 gün ile *R. aculatus* türünden, en kısa vazo ömrü ise 25 gün ile *R. racemosus* türünden elde edilmiştir. Mikoriza inokulasyonu ve %70 gölgeleme kesme yeşilliklerin vazo ömürlerini *R. aculatus*, *R. racemosus* ve *R. hypoglossum* türlerinde sırasıyla 62, 17 ve 37 gün uzatmıştır.

Hani ve ark (2022). *Ruscus aculatus*'un bu etnobotanik araştırmalarda, Lübnan'ın Shouf Biyosfer Rezervi'ndeki (SBR) yerel topluluklar tarafından kullanılan tıbbi bitkileri tanımlamayı ve bunlarla ilişkili geleneksel bilgileri belgelemeyi amaçlamışlardır. Yapılan denemede Odak guplar ve 22 köyden 133 toplum üyesi ile kişisel görüşmeler SBR 2019-2022 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bilgi verenler erkek ve kadınlardan eşit olarak oluşmakta ve farklı demografik özelliklere elde olup, ana bilgi kaynağı atalardan gelmektedir. 57 familyaya ait toplam 184 tıbbi bitki türü kayıtlanmıştır. Baskın familyalar Asteraceae (31 tür), Lamiaceae (14 tür) ve Rosaceae (14 tür) idi. Yapraklar (%23) en çok kullanılan bitki parçasıydı. Kaynatma (%45) baskın hazırlama yöntemi iken, dahili (oral) kullanım (%47) en sık kullanılan uygulama yöntemiydiler. Berberis libanotica, Dittrichia viscosa ve Daucus carota en yüksek atıf sıklığı (FC), göreceli atıf sıklığı (RFC), kullanım değeri (UV) ve yeterlilik düzeyi (FL) puanlarına sahip oldular. Ekstra, gastrointestinal sistem hastalıklarının ve rahatsızlıklarının en çok tedavi edilen kategori olduğu tespit edilmiştir. Neticede bulgular, halen ilgili geleneksel bilgilerle birlikte zengin ve çeşitli bir tıbbi bitki listesi ortaya koymuşturlar ve geniş bir hastalık yelpazesini tedavi etmek için aktif olarak kullanılmaktadırlar. Gelecekteki fitokimyasal ve farmakolojik çalışmalar kullanılan bitki türlerinin etkinliğini ve güvenliğini belirlemek için tavsiye edilir. SBR'nin yönetim organı ve ilgili tüm yetkililer bu zengin biyokültürel mirası korumak için koruma gayretlerini sürdürmeye davet etmektedir.

D'Antuono ve ark (2003) *Ruscus aculatus*'un İtalya'nın doğu tarafında bazı yerlerde bulunmuştular. Ve yapılan araştırmalarda yöntemleri kullanılarak tohum patlaması: kontrol, 5 veya 10 dakika boyunca H₂SO₄ konsantre; 500 ppm'de GA₃ H₂ SO₄ ile eşitleştirilmiş veya olmayan, etrele 1 veya 3 mM, KNO₃ 0.2 veya 0.4%, doğal katmanlama. S. aspera için doğum oranı çok düşük ve diğer iki tür için %0 ile %65 arasında değişkenlik bulunmuştur. Ve elde ettikleri ortalama üreme süresi 140-220 gündür. Düşük dozda KNO₃ ve ethrel iyileşmiş, GA₃ ve H₂SO₄ azalması ve katmanlamanın üreme üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığu gözlemlenmiştir. Büyütme süresi daha yüksek bükülme oranlarında daha kısaydı. Evcilleştirme koşulları yetişme alışkanlığı, kültürel özellikler ve tüketici kabulü dikkate alınarak tartışılmaktadır.

Thomas ve ark (2014). *Ruscus aculatus*'un ekolojik özelliklerini ve davranışlarını incelemiştirler. Britanya Adaları tarafında Biyolojik Florası'nın standart çerçevesi aşağıdaki konuları içermektedir. Dağılım, habitat, topluluklar, biyotik faktörlere tepkiler, çevreye tepkiler, yapı ve fizyoloji, iek ve tohum karakterleri, fenoloji, otullar ve hastalıklar, tarihçe ve koruma. Yaprakları fotosentetik gövdelerle ve kladodlarla değiştiren tek çenekli, çok gövdeli bir çalıdır ve diğer yerlerde yaygın olarak ekilir, ancak Güney İngiltere'ye özgüdür. Ayrıca kuru gölgeli ormanlık alanlarda ve itlerde yetiştirilir. Farklı bir deyişle aşırı sıcaklığa dayanıklı olmakla birlikte, düşük bir su akışı ve transpirasyon düzeyine sahiptir. *Ruscus aculatus*, düşük su iletimi ve terlemesi ve kladodlarda su depolanması ile gölgeye ve kuraklığa karşı oldukça dayanıklıdır. Yine de kuraklığa toleranslı bir kök fotosentetik bitki için alışılmadık bir şekilde gölgeli ortamları tercih eder. Çiçeklerin tozlaşma

mekanizması çok azdır, tohum üretimi düşüktür ve meyve/tohum dağılımı büyük ölçüde etkisizdir; bu da tropikal Tersiyer iklimindeki evriminin bir kalıntısı olabilir. Popülasyonun hayatta kalması, öncelikle bitkinin genel lezzetsizliğinin de yardımıyla, sağlam rizomlardan vejetatif yayılmaya bağlıdır. Tıbbi steroidal saponinler için aşırı toplama, bazı popülasyon düşüşlerine sebep olmuştur, özellikle çok az koruma sorunuyla karşı karşıyadır.

Hadzifejzovi'c ve ark (2013). *Ruscus aculatus*'un ve *Ruscus hypoglossum* L.'un çeşitli örneklerde p-kumarik, kafeik asitler ve rutin gibi bazı bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada antimikrobiyal aktivite, standart ilaçlar olan streptomisin, ampicilin, bifonazol ve ketokonazol ile mikrodilüsyon tekniği kullanılarak sekiz bakteri ve beş mantar türüne karşı denemişlerdir. İncelenen örnekler ve izole edilen bileşenler antibakteriyel ve özellikle mantar önleyici özellikler göstermişlerdir. Ayrıca bu aktivite, standart ilaçlardan (örneğin streptomisin, ampicilin, bifonazol ve ketokonazol gibi) daha başarılı ve bazı izole bileşikler için daha nettir. Deneme sonunda antioksidan aktiviteyi belirlemek için Folin-Ciocalteu reaktifi kullanarak toplam fenolik içeriğinin (TPC) spektrofotometrik tayini ve DPPH ve 2 deoksiriboz deneyleri kullanmışlardır ve DPPH testinde SC50 değerleri 173-541 g/mL arasındayken, bazı örneklerde 2-deoksiriboz inhibisyonu %50'ye kadar yükselmiştir.

Güvenç ve ark (2007). *Ruscus aculatus*'un beş *Ruscus* taksonunda ruscogenin tayini ultra performans yöntemiyle Türkiye'de onaylanmışlardır. Elde ettikleri denemede sıvı kromatografisi (UPLC). Ruscogenin'in kromatografik ayrımı ve tayini bitki ve rizom örneklerinde Acquity UPLC BEH C18 (50 mm- 2.1 mm, i.d., 1.7 μ m) kolon sistemi, aşağıdakilerden oluşan bir mobil faz ile izokratik bir elüsyon kullanarak asetonitril ve su (90:10) (v/v) karışımından 0,3 mL dk1 sabit akış hızında ölçülmüştür. Ayrıca Ruscogenin'in 22-55 μ g mL⁻¹ konsantrasyon aralığındaki kromatografik kalibrasyon gafiği konsantrasyon ve 200 nm dalga boyunda ölçülen pik alanı arasındaki doğrusal ilişki kullanılarak incelenmişlerdir. Sonraki aşamada yöntem doğrulanmış ve başarılı bir şekilde *Ruscus* türlerine ait ruscogenin içeren gerçek örneklerin kantitatif analizi sonuçlandırılmıştır. Sonuçta *Ruscus aculatus*'un hidrolize edilmiş bitkisindeki ruscogenin miktarı, *Ruscus aculatus*'un hidrolize edilmiş rizomlarından daha yüksekti. *R. colchicus*, *R. hypoglossum* ve *Ruscus aculatus*'un rizomlarında *R. hypophyllum*, ruscogenin miktarı bitkilere göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Khojasteh ve ark (2019). *Ruscus aculatus*'un ana biyoaktif bileşenleri olan ruscogeninler uzun süredir tehdit altında olan tıbbi bir bitkidir ve hemoroid ile varis tedavisinde kullanılmışlardır. Hem de uzun zamanlarda bazı damar hastalıklarına karşı aktivite göstermişlerdir. Ayrıca kanser türleri bitki hücreleri biyofaktörleri, ruscogenin kaynağı olarak tüm bitkiye bir alternatif oluşturabilmiştir. Elde ettikleri boru hattında, *R. aculatus*'un deney esnasındaki inatçılığına rağmen, birçok denemeden sonra kırılğan kalli ve türetilmiş bitki hücreleri süspansiyonları ve bunların ruscogenin üretimi, organize bitki hücreleri süspansiyonları ile karşılaştırılmışlardır. Sonunda deney esnasındaki plantlet ve kök-rizom kültürleri Kök-rizomlar biyokütle ve ruscogenin için daha yüksek bir kapasite çıkarmışlar ve üretiminin hücre süspansiyonlarından daha fazla olduğu ve verimin

koronatin ile uyarma ile büyük ölçüde arttığı incelenmiştir. Ruskogeninler bitkilerde esas olarak kök rizomunda birikse de toprak üstü kısmının da bulunduğu gösterilmiştir.

Üretimin tüm bitkide kök rizom kültürlerine göre daha yüksek olması nedeniyle biyosentezlerinde önemli bir rol oynayabilir.

2.2. Tavşan Topuğu Bitkisinin Antibakteriyel Özellikleri

Pivovarovoff ve ark (2010), *Ruscus aculatus*'un gövdeli fotosentetik bitkileri genellikle yüksek ışık mevcudiyetine sahip kurak ortamlarda bulunurlar ve Akdeniz Havzası veya Kuzey Avrupa'nın kuru, gölgeli ormanlık alanlarında bulunurlar. Ayrıca *R. aculatus* kuraklığa ve gölgeye toleransı, bitkilerin ya kuraklığa ya da gölgeye uyum sağlayabileceğini, ancak her ikisine birden uyum sağlayamayacağını öne süren değiş tokuş modeline meydan okumuştur. Daha fazlası elde edilen *R. aculatus*'un gölgeli-kurak ortamlarda hayatta kalmasını sağlayan mekanizmaları anlamak için UCLA kampüsündeki Mildred E. Mathias Botanik Bahçeleri'nde iki tür, *R. aculatus* ve seçmişlerdir. Her iki tür de benzer çevresel koşullar altında birbirine bitişik olarak büyüdü. Bitki morfolojisi (spesifik yaprak alanı dahil), gaz değişimi ölçümleri (CO₂ asimilasyonu, solunum, stoma iletkenliği, su kullanım verimliliği, ışık tepki eğrileri ve CO₂ tepki eğrileri dahil) ve hidrolik (kütiküler iletkenlik, basınç hacmi eğrileri ve yaprak hidrolik iletkenliği dahil) üzerine odaklanarak 35'ten fazla özelliği içeren form-fonksiyon ilişkilerini incelendi. Daha sonra bu özellikleri, *R. aculatus* 'un gölgeye ve kuraklığa toleranslı özellikleri ne ölçüde bir arada gösterdiğini belirlemek için yayınlanmış verilerde bulunan diğer filoklade taşıyan veya gövde fotosentetik bitkiler ve odunsu yaprak dökmeyen gölgeye toleranslı ve toleranssız bitkilerle karşılaştırıldı. Sonucunda *R. aculatus* ve *R. microglossum*, düşük ışık ve suya ihtiyaç duydukları için kuraklığa ve gölgeye eş zamanlı adaptasyon sağlayan hem kuraklığa hem de gölgeye toleranslı özellikler göstermiştir. Bu özellikler arasında düşük maksimum asimilasyon oranlarına sahip kalın filokladlar, düşük solunum, düşük ışık dengeleme noktaları, düşük kütiküler iletkenlik, düşük hidrolik iletkenlik ve iç su depolama dokusuyla ilişkili düşük elastikiyet modülü bulunmaktadır. Çok düşük stoma iletkenliğine rağmen, çok düşük karbon izotop oranları, bu türlerde son derece düşük fotosentetik oranların tipik olduğunu göstermiştir. Genel olarak, bu özellik değerleri düşük ışıktaki yetişen gölgeye toleranslı geniş yapraklı odunsu yaprak dökmeyen ağaçlarla karşılaştırılabilir. *R. aculatus* hem fizyolojik hem de morfolojik olarak, son derece düşük kaynaklara sahip alt bölgeler de dahil olmak üzere geniş bir coğrafi aralıkta gölgeli-kurak bölgeleri işgal etmek için oldukça uzmanlaşmıştır.

Hadzifejzovic' ve ark (2013). *Ruscus aculatus*'un ve *Ruscus hypoglossum* L.'un çeşitli örneklerin yanı sıra daha önce bunlardan izole edilen bazı bileşiklerin (p-kumarik ve kafeik asitler, rutin) antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi analiz edilmiştir. Elde ettikleri Antimikrobiyal aktivite için, standart ilaçlarla (streptomisin, ampicilin, bifonazol, ketokonazol) birlikte sekiz bakteri ve beş mantar karşı mikrodilüsyon tekniği kullanılmıştır. Ekstra analiz edilen ve izole edilen bileşikler antibakteriyel ve özellikle antifungal aktivite göstermiştir. Bazı durumlarda bu aktivite standart

ilaçlardan (streptomisin, ampisilin, bifonazol, ketokonazol) daha iyiydi ve bazı izole bileşikler için daha belirgindi. Antioksidan aktivite, Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak toplam fenolik içeriğinin (TPC) spektrofotometrik tayini ile DPPH ve 2 deoksiriboz deneyleri ile incelenmiştir. Sonucunda DPPH testinde elde edilen SC50 değerleri 173-541 g/mL aralığındayken, bazı örnekler için 2-deoksiriboz inhibisyonu maksimum %50'ye ulaşmıştır ve Antioksidan testlerinin sonuçları toplam fenolik içeriği ile güçlü bir korelasyon göstermişti. Analiz edilen tüm parametreler açısından en aktif olan *R. aculatus* bitkisinin MeOH içeren örneğinin EtOAc fraksiyonu bulunmuştur.

Sharma ve ark (2023), *Ruscus aculatus*'un son yıllarda yapılan çalışmalarda, saponinler çeşitli bitkilerde bulunmaları nedeniyle yoğun ilgi görmektedir. Saponinler ve türevleri, gıda, tarım ve ilaç endüstrilerinde önemli bir rol oynayan, gıdalarda doğal katkı maddesi olarak ve geleneksel ilaçlardaki rollerinden ilaç sektöründeki çeşitli uygulamalara kadar değişen çok yönlü glikozidik bulunmuştur. Ayrıca sitotoksite gibi birkaç yan etkinin yanı sıra hipolipidemik, hipoglisemik, anti-astmatik, antioksidan, anti-hipertansif ve anti-mikrobiyal aktivite gibi muazzam terapötik potansiyele sahip olmuştur. Açıklanan bu özellikler, saponinlere olan talebin artmasına neden olmuş ve bu nedenle araştırmacılar, gereksinimleri karşılamak için doğal saponinlerin yanı sıra sentetik saponin üretimine de ağırlık vermişlerdir. Ek olarak gıdalardaki saponinlerin bileşimi ve biyoyararlanımı, aglikonların ve şeker zincirlerinin bağlantıları arasındaki değişiklikler nedeniyle işleme teknolojilerinden önemli ölçüde etkilenmiştir. Sonunda tüketiciyi bu sihirli bileşiğin tüketimi üzerine potansiyel sağlık yararları konusunda bilinçlendirmek için bir girişimde bulundular ve derleme, saponinler hakkında kısa ve güncel bir genel bakış, farklı saponinlerin işleme yöntemleri, çeşitli iyileştirici etkiler boyunca sağlık etkileri ve saponinlerin endüstriyel kullanımları hakkında bilgi sağlar.

Gyawali ve ark (2014), *Ruscus aculatus*'un gıdalardaki doğal antimikrobiyal bileşiklerinin kullanımı tüketiciler ve gıda endüstrisi tarafından şu iki önemli faktör sebebiyle büyük ilgi görmüştür. Birincisi, antibiyotiklerin yanlış kullanımı, gıda kaynaklı patojenler de dahil olmak üzere yalnızca antibiyotiklere dirençli değil aynı zamanda çeşitli gıda işleme ve koruma metotlarına karşı daha toleranslı olan bir gup mikroorganizmanın dramatik bir şekilde artmasına sebep olmuştur. Ek olarak tüketicilerin sentetik koruyucuların sağlık üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri ve doğal katkı maddelerinin faydaları konusundaki farkındalıklarının artması, araştırmacılar arasında gıdalarda doğal ürünlerin geliştirilmesi ve kullanılması konusunda ilgi oluşturmuştur. Bu koşul, gıda endüstrisini gıdaların güvenliğini ve kalitesini artırabilecek alternatif koruyucular aramaya itmiştir. Ayrıca doğal kaynaklardan elde edilen bileşikler, çok çeşitli gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal özellikleri nedeniyle gıda güvenliği için kullanılma potansiyeline sahip olmuşlardır. Sonucunda bitkiler, hayvanlar, bakteriler, algler ve mantarlar dahil olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen doğal bileşenlerin antibakteriyel faaliyetini ve bunların gıda sistemlerinde potansiyel kullanımını incelemiştir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu tez kapsamındaki çalışmalar Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'ne ait olan Balık Hastalıkları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Tavşan topuğu bitkisinin eldesi

Çok yıllık, nadir de olsa çalı şeklinde büyüme gösteren otsu bitkilerden olan tavşan topuğu bitkisi daha çok rizom, yumrulu veya soğanlı bir bitkidir. Yaprakları, alternat özelliği gösteren, bazal yapıda, linear-lanseolatşekli gösteren bir yapıdadır. Etki ve sert bir yaprak yapısına sahiptir. Hermafrodit yapıya sahip çiçekleri bulunan, çoğunlukla eşeyli (monoik) bir bitkidir. Çiçeklerden oluşan meyveler 15-20 adet tohum içeren genellikle kırmızı veya koyu turuncu rektedirler. Dahil oldukları familya olan Ruscaceae'ya dahil olan türlerin bir çoğu; tıbbi betkiler ve süs biktileri guplarındardır (Pandey ve Kasana, 2021).

Doğal olarak akdeniz bölgesinde 500 m yüksekliğe kadar olan kıyı kesimlerde bulunan bitki Osmaniye ili sınırları içerisinde bulunan Nurdağı'nda bulunan yaylalardan bir tanesi olan Zorkun Yaylası yolu üzerinden toplanmıştır.



Şekil 3.1. Tavşan Topuğu Bitkisi ve meyvesi

Arazi çalışmasında elde edilen bitkiler laboratuvara getirilerek yıkanmış ve kurumaya bırakılmıştır.

3.2.2. Ektraktların eldesi

Arazi çalışması sonunda elde edilen bitkilerin bir kısmı yaprakları dallarından ayrılmıştır. Elde edilen yapraklardan 10 g tartılarak üzerleri tamamen etanol ve metanol ile kaplanacak şekilde

çözücü ile doldurulmuştur. Aynı şekilde yıknıp nemi alınan tüm dallar sızdırmaz vida kapaklı cam şişeler içlerine yerleştirilmiş ve üzerlerine 100 ml solvent eklenerek kapakları kapatılmıştır.



Şekil 3.2. Ekstraksiyonun hazırlanması

Hazırlanan karışımlar, üzerleri etiketlenerek 7 gün boyunca karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Yedi günün sonunda filtre ile süzülerek balon jodelere alınmıştır. Bu işlemde sonra elde edilen karışımlar çözücü olarak kullanılan ethanol ve metanolden ayrılarak saflaştırma yapılmak üzere evapore alınarak 5 ml kalıncaya kadar uçurma işlemi yapılmıştır. Elde edilen ekstraktlar 10 ml'lik koyu renkli cam şişelere alınarak analizlere kadar +4°C'de saklanmışlardır.

Çizelge 3.1. Bitki ekstraktının hazırlanması

| | Ekstraksiyon | | | |
|---|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|--|
| 1 | 10 g Yaprak + 100 ml Ethanol | 10 g tüm bitki + 100 ml Ethanol | 10 g Yaprak + 100 ml Methanol | 10 g tüm bitki + 100 ml Methanol |



Şekil 3.3. Ekstraktların eldesinde kullanılan solventin evapore edilerek saflaştırma

3.2.3. Tavşan topuğu'nun Kimyasal karakterizasyonunun belirlenmesi

Elde edilen ekstraktların GC-MS'te karakterizasyonun yapılması amacı ile, hazırlanan ekstraktlar 45µ'luk filtrelerden süzölmüştür. Süzme işleminden sonra GC tüpleri içerisine yerleştirilerek soğuk zincir altında Çukurova Üniversitesi Merkezi Laboratuvara götürölmüştür. Kimyasal karakterizasyon için için aşağıda belirtilen yöntem kullanılmıştır.

Uçucu bileşen analizi Agilent Marka 7890B GC, 7010B MS sistemi ile belirlenmiştir. Analizde DB-Wax (60 m x 0.25mm'i.dx 0.25 µm, J&W Scientific-Folsom, USA) kapiler kolonuna 1 uL örnek 0.45 um filtreden geçirilerek enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sıcaklığı 250 °C, kolon sıcaklığı 40 °C'de 4 dakika beklemeden sonra dakikada 3 °C artırılarak 90 °C'ye, sonra dakika da 4 °C artırılarak 130 °C'ye çıkarılmış bu sıcaklıkta 4 dakika bekledikten sonra da dakikada 5°C artırılarak sıcaklık 240 °C'ye ayarlanmış ve bu sıcaklıkta 8 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak Helyum kullanılmıştır. Elektron enerjisi 70 eV ve kütle aralığı ise 30-600 m/z'dir. Split 1:20 şeklindedir. Kütüphane olarak NIST14L kullanılmıştır.

3.2.4. Tavşan topuğu'nun ekstraktının antibakteriyel etkisinin belirlenmesi

Çalışmada 5 farklı bakteriyel patojen olan *Aeromonas hydrophila*, *Laktococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda* ve *Yersinia ruckeri* kullanılmıştır. Bu patojenler daha önceki arazi çalışmalarında elde edilen patojenlerdir. Bu patojenlerin tür tespiti Çukurova Üniversitesi merkezi laboratuvarında bulunan Vitek cihazı ile yapılmıştır. Stok kültürlerden çıkarılarak genel amaçlı besi yeri olan ticari olarak eld edilmiş olan Tryptic Soy Agar ile çoğaltmaları yapılmıştır. Elde edilen kültürler çalışmada kullanılmak üzere genel amaçlı besi yeri olan Tryptic Soy Broth içerisine ekimi yapılmış ve 24 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen kültürler 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek bakterilerin çökmesi sağlanmış arkasından steril %0,9'luk NaCl ile yıkamış

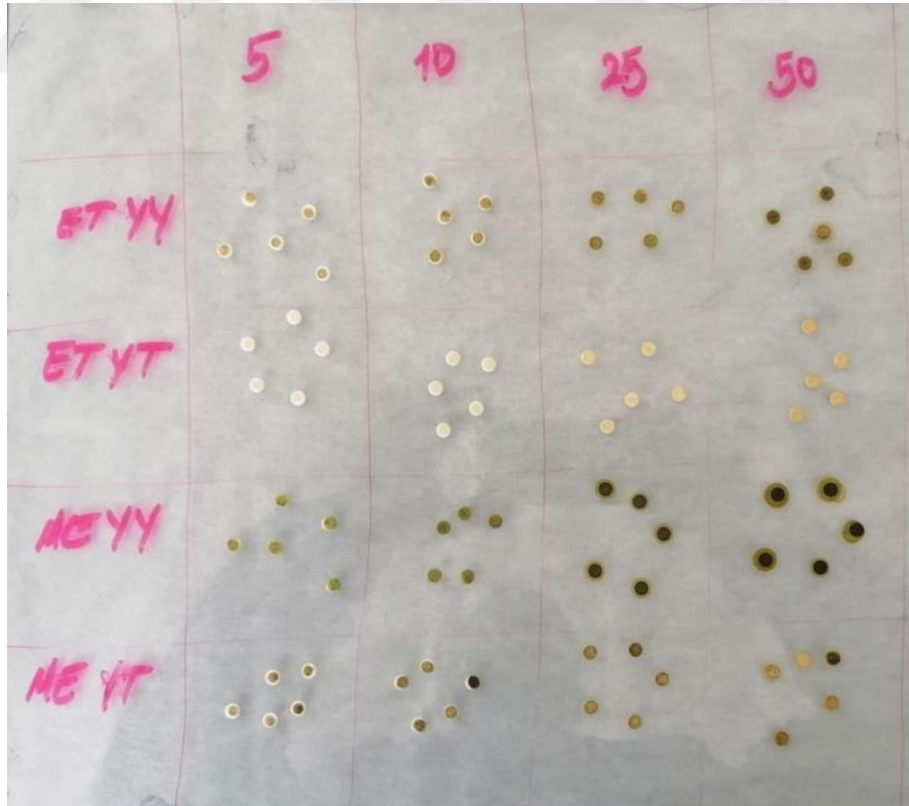
ve yeniden 3 tekrarlı olacak şekilde yıkanarak santrifüj edilmiştir. Elde edilen bakterileri kültürleri McFarlant ile 0,6 değerinde olacak şekilde serum fizyolojik ile seyreltilmiştir.

Antibiyotik duyarlılık testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemine göre (Bauer ve ark., 1966) yapılmıştır. Ekstratların 5 farklı balık patojeni olan antibakteriyel *Aeromonas hydrophila*, *Lactococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda* ve *Yersinia ruckeri* kullanılmıştır.

Ayrıca şuşlara ait duyarlılık tespitinde 14 antibiyotik içeren [amoksisilin (20 µg), ampisilin (10 µg), enrofloksasin (5µg), florfenikol (30 µg), , gentamisin (10 µg), kloramfenikol (30 µg), neomisin (30 µg), oksitetrasiklin (30 µg) ve sulfametaksazol-trimetoprim (25 µg), levofloksasin (5 µg), kullanılmıştır (Oxoid, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, UK). Agar yüzeyine antibiyotik diskler steril pens yardımı yerleştirilerek, uygun şartlarda inkubasyona bırakılacaktır. 24 ve 48 saatlik inkübasyonlar sonrasında disk etrafında oluşan zonlar dijital kumpas ile ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Çalışmada elde edilen dört farklı ekstrakt, microflow kabin içerisinde, cam üzerine yerleştirilmiş boş disklerle 5-10-25-50µl oranlarında emdirilmiş ve kurumaya bırakılmıştır.

Elde edilen bakteri bir gün öncesinden hazırlanan MHA üzerine yayılarak kurumaya bırakılmıştır. Arkasından daha öncesinden hazırlanmış olan ekstraksiyon emdirilmiş diskler belirli aralıklar ile yerleştirilmiş ve inkübe edilmiştir.



Şekil 3.4. Ekstrakt emdirilmiş diskler

3.2.5. İstatistiki Analizler

Tüm veriler için Saphiro-Wilk's normalite ve homojenite testleri yapıp doğrulandıktan sonra, tek yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. Guplar arasında fark belirlenmesi halinde, Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır. Tüm istatistiki analizler R Studio (versiyon 4.1.3) progamı kullanılarak yapılmıştır.





4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Bulgular

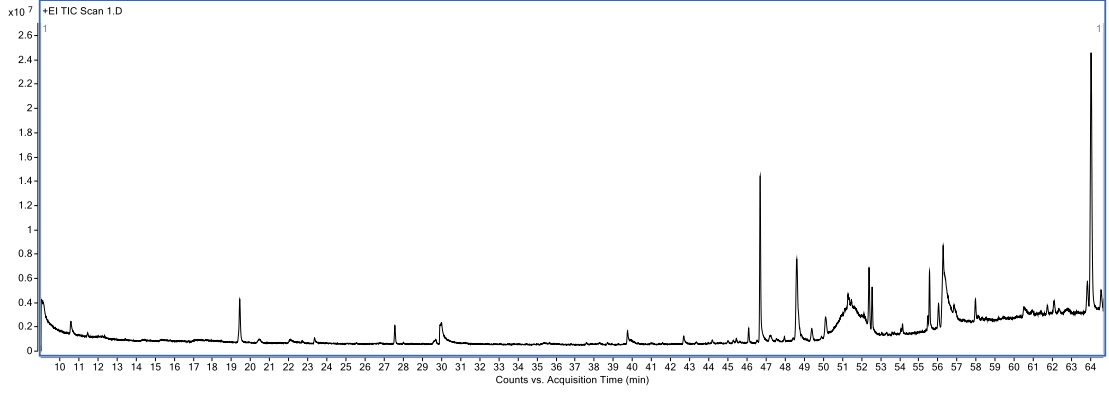
4.1.1. Elde edilen Tavşan Topuğu bitkisinin kimyasal karakterizasyonu

Elde edilen ekstraktların GC-MS ile yapılan karakterizasyon analizleri sonucunda her bir ekstraktın içeriği belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda herbir gubun kimyasal içerikleri belirlenmiş ve aşağıdaki çizelge ve grafiklerde verilmiştir.

Ethanol içerisinde yaprak ekstraksiyonunun GC-MS'deki karakterizasyon değerleri aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Ethanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşenleri

| Kimyasal bileşen isimleri | RT | % |
|--|----------|-------|
| 2-Hexanol, (S)- | 10,5854 | 1,16 |
| 1-Butanol, 3-methyl- | 19,4326 | 3,66 |
| Oxirane, 2-butyl-3-methyl-, cis- | 20,46098 | 0,63 |
| 1-Propanone, 1-(1-adamantyl)-3-dimethylamino- | 22,09413 | 0,63 |
| [1,3,4]Oxadiazole | 27,55532 | 1,20 |
| Azetidin-2-one 3,3-dimethyl-4-(1-aminoethyl)- | 29,6919 | 0,61 |
| Acetic acid | 29,99582 | 0,55 |
| 1-[(Trimethylsilyl)oxy]propan-2-ol | 39,74547 | 0,83 |
| Aziridine, 2-(1,1-dimethylethyl)-3-methyl-, trans- | 42,68323 | 0,79 |
| Benzyl alcohol/N-.alpha.,N-.omega.-Di-cbz-L-arginine | 46,09062 | 0,87 |
| 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl- | 46,68765 | 10,51 |
| Arginine | 47,21412 | 0,72 |
| Neophytadiene/Undecanal | 48,60775 | 10,36 |
| 3,6-Dimethyl-3,6-dihydro-pyran-2-one oxime | 49,3905 | 1,19 |
| | 50,11187 | 1,94 |
| N-Nitroso-2,4,4-trimethyloxazolidine | 51,29672 | 1,42 |
| 2,6-Naphthalenediol, 1,5-bis[[3-(4-methylpiperazino)propylimino]methyl]- | 51,45942 | 0,53 |
| 3-Piperidinol, 1-methyl- | 52,3895 | 3,41 |
| Piperidine, 4-chloro-1-methyl- | 52,55218 | 2,07 |
| [1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester | 54,14528 | 0,53 |
| | 55,47135 | 0,67 |
| 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 55,55728 | 3,57 |
| Hexadecanoic acid, ethyl ester | 56,03307 | 1,74 |
| 2,7-Octadiene-1,6-diol, 2,6-dimethyl/1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]- | 56,2725 | 16,52 |
| d-Mannitol, 1,4-anhydro- | 56,84957 | 1,00 |
| Benzeneethanamine, .alpha.-methyl- | 57,96688 | 1,31 |
| | 60,50847 | 0,58 |
| | 61,72707 | 0,61 |
| Cyclopropanetetradecanoic acid, 2-octyl-, methyl ester | 62,08622 | 1,07 |
| Ethyl 9,12,15-octadecatrienoate | 63,82663 | 2,60 |
| Phytol | 64,02002 | 25,16 |
| : 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxy-1-butenyl)-3,5,5-trimethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- | 64,54183 | 1,58 |

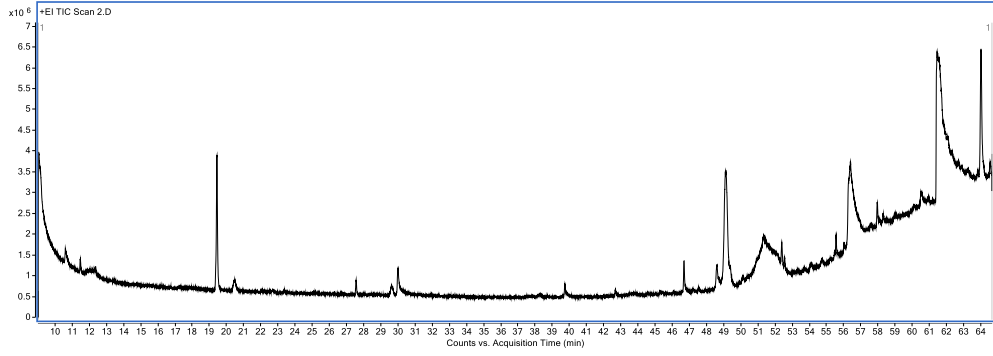


Şekil 4.1. Ethanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşen gafiği

Ethanol içerisinde tüm bitki ekstraksiyonunun GC-MS deki karakterizasyon değerleri aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Ethanol tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşenleri

| ETYT | RT | % |
|--|----------|-------|
| 2-Hexanol, (S)- | 10,60015 | 0,92 |
| 1-Butanol, 3-methyl- | 19,43813 | 6,98 |
| Oxirane, 2-butyl-3-methyl-, cis- | 20,47573 | 1,25 |
| Azetidin-2-one 3,3-dimethyl-4-(1-aminoethyl)- | 29,64525 | 0,84 |
| Butanenitrile, 2,3-dioxo-, dioxime, O,O'-diacetyl- | 29,99828 | 2,37 |
| 2-Dimethylsilyloxytetradecane | 39,74797 | 0,91 |
| 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl- | 46,68558 | 1,49 |
| Neophytadiene/Undecanal | 48,6072 | 1,62 |
| 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxybutyl)-3,5,5-trimethyl- | 49,12597 | 12,66 |
| 1,3-Dioxolane, 2,2,4,5-tetramethyl-, trans- | 51,33607 | 0,93 |
| 2,6-Naphthalenediol, 1,5-bis[[3-(4-methylpiperazino)propylimino]methyl]- | 51,4435 | 0,76 |
| 3-Piperidinol, 1-methyl- | 52,392 | 0,78 |
| 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 55,56592 | 0,76 |
| 1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]- | 56,3947 | 16,05 |
| N-Chloroacetyl-3,6,9,12-tetraoxapentadec-14-yn-1-amine | 57,96017 | 0,85 |
| n-Hexadecanoic acid | 61,48708 | 42,08 |
| Phytol | 64,01328 | 8,77 |



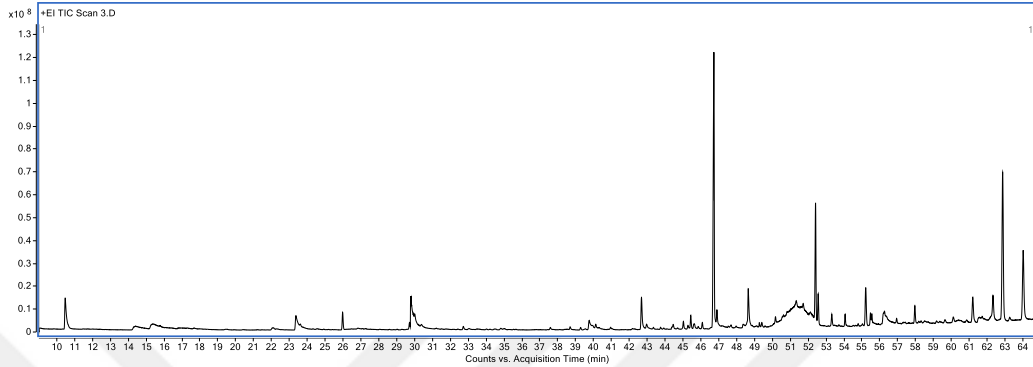
Şekil 4.2. Ethanol Tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşen gafiği

Methanol içerisinde yaprak ekstraksiyonunun GC-MS'deki karakterizasyon değerleri aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Çizelge 4.3. Methanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşenleri

| MEYY | RT | % |
|---|----------|--------|
| Aziridine, 1-ethenyl- | 10,47558 | 4,134 |
| 2,6-Dimethyl-2-trans-6-octadiene | 14,40055 | 0,871 |
| cis-2,6-Dimethyl-2,6-octadiene/1,5-Heptadiene, 2,3,6-trimethyl- | 15,36753 | 1,596 |
| Acetic anhydride | 23,37103 | 1,954 |
| N-Methyl-2-carbomethoxyazetidine | 25,97963 | 1,255 |
| Pyrrolidine, N-(4-methyl-3-pentenyl)- | 29,71883 | 0,446 |
| Acetic acid | 29,78022 | 4,534 |
| Acetic acid | 30,00738 | 0,907 |
| 1-[(Trimethylsilyl)oxy]propan-2-ol | 39,76003 | 0,949 |
| 1,2-Cyclopentanedione | 42,68238 | 2,881 |
| Cyclohexanol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)- | 45,02455 | 0,613 |
| 2,6-Dimethyl-octa-2,6-dien-1-ol | 45,43895 | 0,913 |
| | 45,63847 | 0,553 |
| Butane, 2,2-dimethyl/1,2-Dimethylaziridine/Oxalic acid, isobutyl pentyl ester | 46,73127 | 22,209 |
| 2,4-Hexanediol, 5-methyl-3-nitro- | 46,9001 | 1,464 |
| Aziridine, 2-(1,1-dimethylethyl)-1,3-dimethyl- | 48,3643 | 0,478 |
| Maltol | 48,65356 | 4,004 |
| 1,3-Dioxolane, 2,2,4,5-tetramethyl-, trans- | 51,33257 | 0,833 |
| Butane, 2-isothiocyanato- | 52,41307 | 7,651 |
| Piperidine, 4-chloro-1-methyl- | 52,5604 | 1,822 |
| 1,6-Anhydro-2,4-dideoxy-.beta.-D-ribo-hexopyranose | 53,32165 | 0,864 |
| Ethanone, 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)- | 54,06448 | 0,830 |
| Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl ester | 55,21557 | 3,317 |
| Phenol, 2,6-dimethoxy- | 55,4826 | 0,695 |
| 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 55,55935 | 0,546 |
| | 56,26533 | 3,388 |
| Benzofuran, 2,3-dihydro- | 57,9628 | 1,247 |
| [1,1'-Bicyclopropyl]-2-octanoic acid, 2'-hexyl-, methyl ester | 60,11148 | 0,470 |

| | | |
|---|----------|--------|
| Linoleic acid ethyl ester | 61,20117 | 2,564 |
| n-Hexadecanoic acid | 61,55723 | 0,486 |
| Cyclopropane, 1-methoxy-2,2-dimethyl-3-(3,3-dimethyl-1-propynyl)- | 62,32768 | 3,018 |
| 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)- | 62,87098 | 14,643 |
| Phytol | 64,01592 | 7,863 |



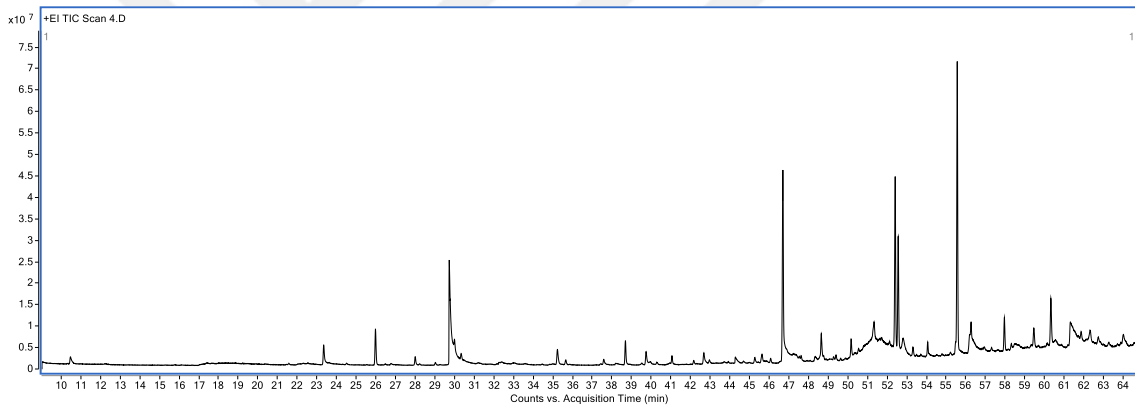
Şekil 4.3. Methanol yaprak ekstraktın kimyasal bileşen gafiği

Methanol içerisinde tüm bitki ekstraksiyonunun GC-MS deki karakterizasyon değerleri aşağıdaki gibi bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Methanol tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşenleri

| MEYT | RT | % |
|--|----------|--------|
| Aziridine, 1-ethenyl- | 10,47294 | 0,763 |
| Acetic anhydride | 23,35114 | 1,460 |
| N-Methyl-2-carbomethoxyazetidine | 25,98293 | 2,265 |
| 2-Propenoic acid, ethenyl ester | 28,00368 | 0,558 |
| Acetic acid | 29,73423 | 10,699 |
| Acetic acid | 29,99823 | 1,569 |
| 4-Aminocyclohexanone, N-acetyl- | 30,33897 | 0,367 |
| 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl- | 35,23528 | 1,316 |
| 3-Aminopyrrolidine | 37,59287 | 0,421 |
| 2-Furanmethanol | 38,69492 | 1,502 |
| 1-[(Trimethylsilyl)oxy]propan-2-ol | 39,74387 | 0,883 |
| 2-Furanmethanol, 5-methyl- | 41,05862 | 0,514 |
| 1,2-Cyclopentanedione/Aziridine, 2-(1,1-dimethylethyl)-3-methyl-, trans- | 42,6825 | 1,013 |
| 4,4-Ethylenedioxy-pentanenitrile | 44,29754 | 0,733 |
| Z-3-Methyl-2-hexenoic acid | 45,27943 | 0,420 |
| | 45,63858 | 0,609 |
| Hexane, 2,2,5-trimethyl- | 46,6976 | 12,920 |
| Maltol | 48,65295 | 1,976 |
| Furaneol | 50,17135 | 0,992 |
| 1,3-Dioxolane, 2,2,4,5-tetramethyl-, trans-/Acetamide, N-(1-methylpropyl)- | 51,33575 | 1,774 |
| Butane, 2-isothiocyanato- | 52,41317 | 9,713 |
| Piperidine, 4-chloro-1-methyl- | 52,56357 | 6,325 |

| | | |
|---|----------|--------|
| Acetic acid, 2-[2-methyl-4-(1-piperidylmethyl)-1,3-dioxolan-2-yl]-, ethyl ester | 52,81527 | 1,728 |
| 1,6-Anhydro-2,4-dideoxy-.beta.-D-ribo-hexopyranose | 53,31255 | 0,540 |
| Cyclohexanone, 2-(2-butynyl)- | 54,06458 | 0,739 |
| 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl- | 55,56558 | 16,410 |
| d-Glycero-d-ido-heptose | 56,27158 | 5,101 |
| Benzofuran, 2,3-dihydro- | 57,9629 | 1,981 |
| | 58,50007 | 0,959 |
| | 59,46083 | 1,520 |
| Thiophene, 2-propyl- | 60,32645 | 3,060 |
| | 60,57507 | 0,387 |
| Dodecanoic acid, 3-hydroxy- | 61,3179 | 4,624 |
| Melezitose | 61,86427 | 0,446 |
| 2(3H)-Naphthalenone, 4,4a,5,6,7,8-hexahydro-1-methoxy- | 62,31857 | 1,023 |
| | 62,74215 | 0,749 |
| | 63,26705 | 0,384 |
| Phytol | 64,016 | 1,558 |



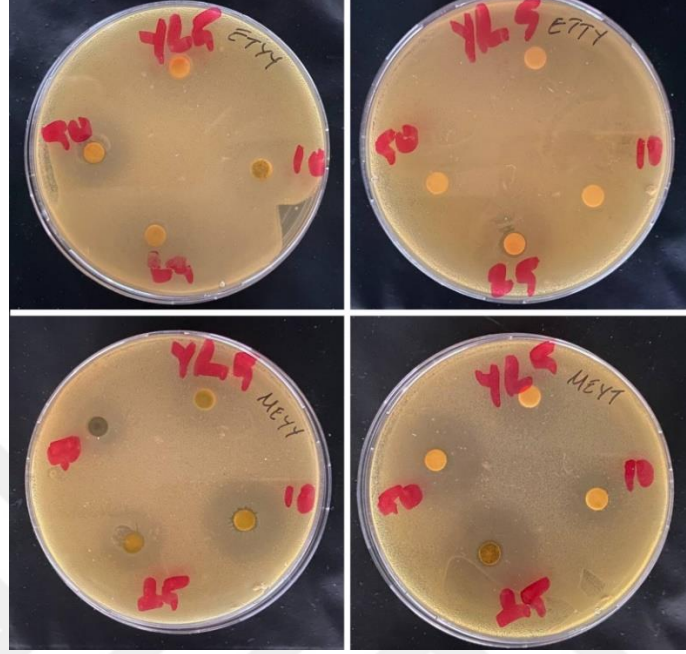
Şekil 4.4. Methanol Tüm bitki ekstraktın kimyasal bileşen gafiği

Ekstraktların yüzdesel olarak en fazla bulunan maddeler sırasıyla etanol yaprak, etanol tüm bitki, metanol yaprak, metanol tüm bitki; Phytol 1,2-Dimethylaziridine/Hexane, 2,2,4-trimethyl-, 2,7-Octadiene-1,6-diol, 2,6-dimethyl/1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-; n-Hexadecanoic acid, 1,2,3,4-Butanetetrol, [S-(R*,R*)]-, 2-Cyclohexen-1-one, 4-(3-hydroxybutyl)-3,5,5-trimethyl-; Butane, 2,2-dimethyl/1,2-Dimethylaziridine/Oxalic acid, isobutyl pentyl ester 9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)-; Butane, 2-isothiocyanato-; 4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-, Hexane, 2,2,5-trimethyl-, Acetic acid olarak tespit edilmiştir.

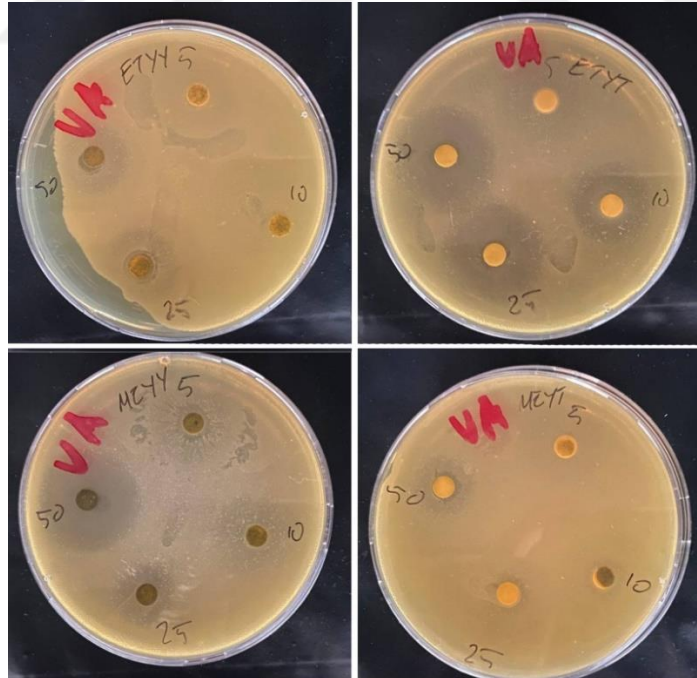
4.1.2. Tavşantopuğu Ekstraktının Antibakteriyel özelliği

24 saat inkübasyon sonunda hazırlanan ekstrak emdirilmiş boş diskler etrafında oluşan zonlar dijital kumpas yardımı ile ölçülmüş ve aşağıdaki değerler bulunmuştur (Çizelge 4.5). Yapılan ölçümler sonunda 4 farklı ekstrakta elde edilen zon çapları değerlendirildiğin 50µl olarak eklenen

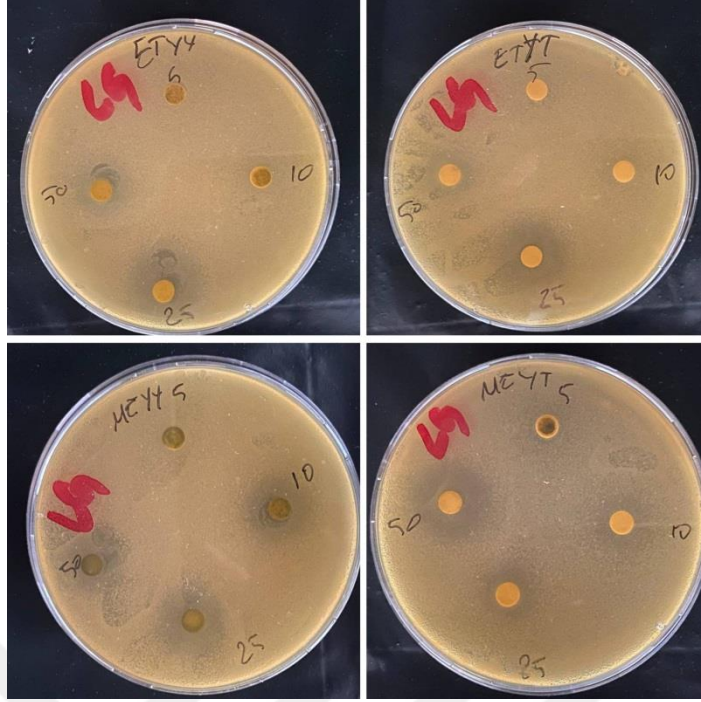
disklerdeki ölçümler istatistiki olarak farklı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca *Edwardsiella tarda*'ya karşı sadece etanol ile hazırlanan yaprak ekstraksiyonunda etki görülmüş diğerlerinde bir zon oluşmadığı ölçülmüştür.



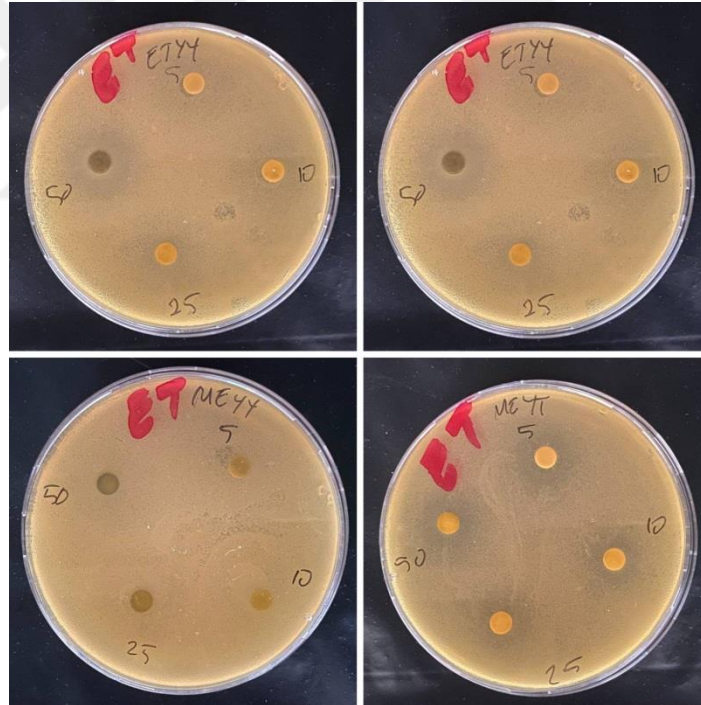
Şekil 4.5. *Yersinia ruckeri*'ye karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi



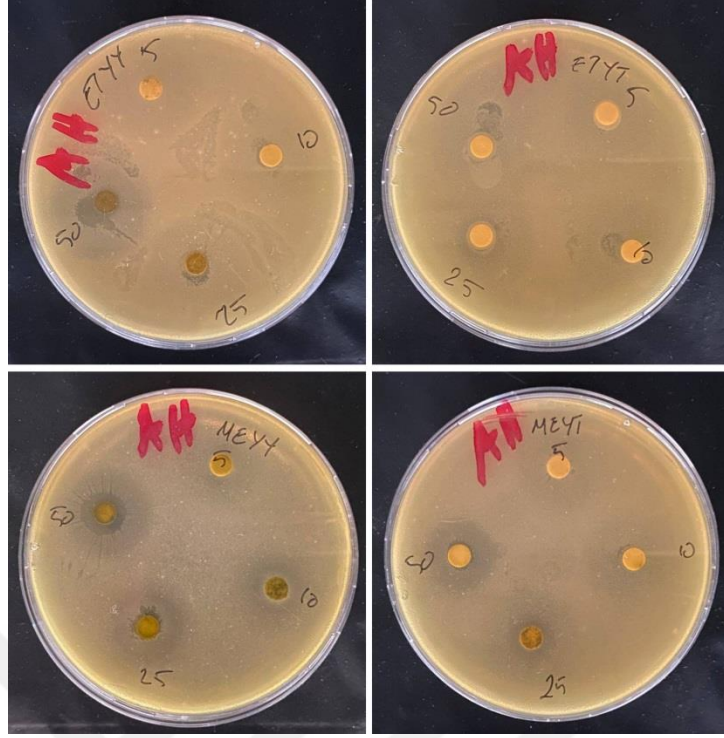
Şekil 4.6. *Vibrio anguillarum*'a karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi



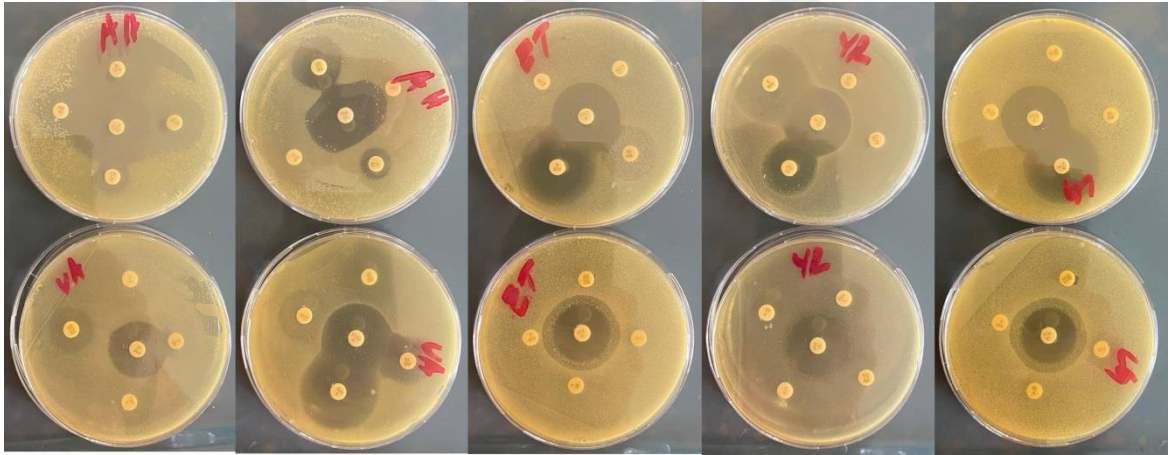
Şekil 4.7. *Lactococcus garvieae*'ye karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi



Şekil 4.8. *Edwardiella tarda*'ya karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi



Şekil 4.9. *Aeromonas hydrophila*'ya karşı ekstraktın antibakteriyel etkisi



Şekil 4.10. 5 farklı bakteriyel balık patojenine karşı kullanılan ticari antibiyotik disk difüzyon testleri

Çizelge 4.5. Ekstraktların Disk Dügüzyon yöntemi ile ölçülen değeri

| Patojen izolatlar | Solvent konsantrasyonu ($\mu\text{l}/\text{disc}$) | Ortalama inhibisyon zon çapları (mm \pm SD) | | | | | |
|-----------------------|--|---|-------------------------------|------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---------|
| | | ETYY | ETTY | MEYY | METY | Antibiyotik | IZ (mm) |
| <i>A. hydrophila</i> | 10 | _ _a A | _ _A | 10,7 \pm 0,6 ^{aB} | _ _a A | Florfenicol (30 μg) | 39 |
| | 25 | _ _a A | _ _A | 18,3 \pm 0,6 ^{bC} | 11,7 \pm 0,6 ^{bB} | Ampicilin (10 μg) | 21 |
| | 50 | 22,7 \pm 0,6 ^{bC} | _ _A | 25,0 \pm 1,0 ^{cD} | 15,7 \pm 0,6 ^{cB} | Tetracycline (30 μg) | 29 |
| <i>V. anguillarum</i> | 10 | _ _a A | 17,7 \pm 0,6 ^{aC} | _ _a A | 11,0 \pm 0,0 ^{aB} | Florfenicol (30 μg) | 16 |
| | 25 | 16,7 \pm 0,6 ^{bC} | 21,3 \pm 0,6 ^{bD} | 14,7 \pm 0,6 ^{bB} | 10,7 \pm 0,6 ^{aA} | Ampicilin (10 μg) | 18 |
| | 50 | 17,3 \pm 0,6 ^{bB} | 23,7 \pm 0,6 ^{cC} | 23,7 \pm 0,6 ^{cC} | 14,3 \pm 0,6 ^{bA} | Tetracycline (30 μg) | 15 |
| <i>Y. ruckeri</i> | 10 | _ _a A | _ _a A | 20,7 \pm 0,6 ^{aC} | 11,0 \pm 1,0 ^{aB} | Florfenicol (30 μg) | 22 |
| | 25 | 8,7 \pm 0,6 ^{bA} | 17,3 \pm 0,6 ^{bB} | 20,7 \pm 0,6 ^{aC} | 21,00 \pm 1,00 ^{bC} | Ampicilin (10 μg) | 25 |
| | 50 | 15,3 \pm 0,6 ^{cA} | 18,3 \pm 0,6 ^{cB} | 21,3 \pm 0,6 ^{aC} | 24,00 \pm 1,00 ^{cD} | Tetracycline (30 μg) | 19 |
| <i>L. garvieae</i> | 10 | 9,6 \pm 1,2 ^{aB} | _ _a A | 14,3 \pm 0,6 ^{aD} | 12,0 \pm 1,0 ^{aC} | Florfenicol (30 μg) | 46 |
| | 25 | 14,3 \pm 1,5 ^{bAB} | 15,6 \pm 0,6 ^{bBC} | 17,3 \pm 0,6 ^{bC} | 13,3 \pm 0,6 ^{aA} | Ampicilin (10 μg) | 32 |
| | 50 | 15,6 \pm 0,6 ^{bA} | 16,3 \pm 0,6 ^{bA} | 18,6 \pm 0,6 ^{cB} | 18,6 \pm 0,6 ^{bB} | Tetracycline (30 μg) | 32 |
| <i>E. tarda</i> | 10 | - | - | - | - | Florfenicol (30 μg) | 34 |
| | 25 | - | - | - | - | Ampicilin (10 μg) | 24 |
| | 50 | 12,3 \pm 0,6 | - | - | - | Tetracycline (30 μg) | 36 |

Veriler ortalama \pm standart sapma ($n = 3$) olarak ifade edilmiştir. Aynı satırda yer alan harfler (A-C) istatistiksel olarak farklılıkları ifade etmektedir. Aynı sütunda yer alan harfler (a-c) istatistiksel olarak farklılıkları ifade etmektedir (Duncan's post hoc test, $p < 0.05$); -: inhibisyon zonu oluşmamıştır.

4.2. Tartışma

Su ürünleri sektörü son 50 yılda ciddi anlamda ilerlemeler kaydetmiştir. Artan gıda ihtiyacının karşılanmasında önemli protein kaynaklarından birtanesi olan balıklar yetiştiricilik ortamına alınmaya başlamasından itibaren karşılaşılan hastalık problemlerine karşı farklı çözüm yolları geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam etmektedir. Hastalık problemlerine karşı uygulanan tedavi yöntemlerinde kullanılan medikamentler kısmen balıklar için toksik olabilmenin yanı sıra patojenler için toksik, ortamda bulunan diğer canlılar içinde toksik olabilmektedir. Bu sebeple kullanılan medikamentlerin çevre ile etkileşiminin kısıtlanması ve hem balık hemde insan için dirençli patojenlerin gelişmesine sebebiyet vermektedir. Bahsedilen nedenlerden dolayı bakteriyel patojenlere karşı kullanılacak olan antibiyotiklere kısıtlamalar getirilmektedir.

Özellikle doğada çok kolay bir şekilde parçalan ve diğer canlılar ile çok az etkileşime giren doğal bileşiklerin elde edilmesi ve kullanımı üzerine çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Özellikle

geleneksel tedavi yöntemlerinde kullanılan bitkisel veya hayvansal kaynaklı doğal medikamentlerin farklı alanlarda kullanımı, değerlendirilmesi ve yöntemler ile aldesi üzerine oldukça fazla sayıda çalışmalar bulunmaktadır (Aksoy ve ark., 2023; Castro-Enríquez ve ark., 2023; Tagida ve ark., 2023; Francis ve ark., 2023; Han ve ark., 2023; Bhatia ve ark., 2023; Ateş ve ark., 2003; Hammer ve ark., 1999; Zazharskyi ve ark., 2019; Rios ve ark., 2005)

Özellikle biyopolimerler ve bitki ekstraktları ile birlikte farklı inorganik mineral ve iz elementlerinb naopartikül formu ile birlikte verilmesi ile elde edilen karışımların karasal hayvanlar ve sucul canlılar üzerine etkileri üzerine çalışmalar mevcuttur (Thangapandiyan ve ark., 2020; Kumaran ve ark., 2021; Çiçek ve ark., 2021; El Naggar ve ark., 2022; Abd Naby El ve ark., 2020).Ruscus cinisne dahikl olan bitkiler geleneksel tıp alanında oldukça fazla mikltarda farklı tedavi amaçları ile kullanılan tıbbi aromatik bitkilerden bir tanesidir. Bitkinin toprak altında kalan kısımları vazokonstriktifik ve vanotiniksel etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bitkiden elde edilen ve içeriğinde bulunan ana bileşenler olan flavonidler ve yağ asitleri farmakokinetik özelliğe sahip oldu bilinmekte ve özellikle avrupada farklı amaçlar ile kullanılmaktadır (Nazamiyeh ve ark.,2018).

Abdelghany ve ark., (2023)'nın söğüt yaprağının nanopartikül çinko ile yaptıkları denemede nanopartikül eklenmiş olan ekstraktın antimikrobiyal özelliklerinin ticari olarak kullanılan antibiyotiklere oldukça benzer sonuçlar elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz 28kstraktları ile elde edilen sonuçlar, ticari olarak kullanılan antibiyotiklere oranla daha düşük etkiye sahip oldukları görülmektedir. Bununla birlikte ticari antibiyotiklerin doz ve saflık oranları dikkate alındığında elde edilen sonuçlar değişken olarak kabul edilebilir düzeydedir.

Ayrıca tamamen bitki ekstraktının balık üzerine patojen olan bakterilere karşı etkinliğinin ortaya konulması amacı ile yapılan bu çalışmada elde edilen verilerin literatür ile karşılaştırılması tam anlamıyla yapılamamıştır. Yapılan literatür incelemelerinde balık patojeni olan bakteriyel türker olan *Aeromonas hydrophila*, *Laktococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda* ve *Yersinia ruckeri* üzerine yapılan çalışmalar olmamasına rağmen tavşan topuğu üzerine yapılmış çalışma sayısı oldukça azdır.

Tavşan toğunun antibakteriyel özelliği üzerinde yapılan yüksek lisans tezi olan ve Funda Karakayanın yapmış olduğu çalışmada sadece antibakteriyel değil aynı zamanda antibiyofilm, antikanserojen aktivitelerinin nanopartikül gümüş ilavesi ile çalışmışlardır.

Yaptığımız çalışmada kullanılan *Aeromonas hydrophila*, *Laktococcus garvieae*, *Vibrio anguillarum* ve *Edwardsiella tarda* ve *Yersinia ruckeri* türlerine karşı yapılan çalışmada dört türe karşı etkinliği kısmen olan tavşan topuğu ekstraktının E. *tarda*'ya karşı etkili olmadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda diğer bakteriyel patojenlerin de ticari antiiyotiklerin oluşturdukları zonlar da dikkete alındığında literatürde de rastlanılan özellikle iz elementlerin nanopartikül hallerinin veya özellikle organik biyopolimerler ile yapılan çalışmalarda olduğu gibi farklı karışımlar ile denenmesi gerekmektedir.

Yapılan bu çalışmada kısmen dahi olsa bitkisel olarak elde edilen bu ekstraktın etkili olduğunu gösterilmiştir ve literatürdeki çalışmalar ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda kullandığımız *R. aculeatus* L. bitki ekstraktlarının metanol ve etanol ile hazırlama metodu antimikrobiyal aktivitelerinin bakteriyel balık patojenleri olan *A. hydrophila*, *L. garvieae*, *V. anguillarum*, *E. tarda* ve *Y. ruckeri* karşı etkinliklerinin incelenmemiş olması ticari antibiyotiklere alternatif bitkisel kaynaklı çözüm bulunmaya çalışılmıştır. Daha sonra yapılacak olan çalışmalarda farklı patojenlere karşı hem bitki ekstraktlarının hem de farklı organik maddeler ile denenmesi etki mekanizmasının aydınlatılması önem taşımaktadır. Ayrıca moleküler teknikler kullanılarak yapılacak in vivo çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır. Yapılacak olan bu çalışmalar ile terapötik ajanların farklı alanlarda kullanımının da önünü açacağı düşünülmektedir.





5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- Elde edilen bulgular tavşan topuğu bitkisinin balık patojenlerine karşı iki farklı solvent olan ethanol ve methanol ile ekstraksiyonun sonucunda elde edilen bileşiklerin kısmen dahi olsa bazı balık patojenlerine karşı etkinliğinin varlığını göstermiştir.
- Farklı solventler ile farklı ekstraksiyon yöntemlerinin denenmesi ile daha etkin ekstraktlar hazırlanarak sadece bakteriyel patojenler değil mantar, virüs ve parazitlere karşıda denemelidir.
- Sitotoksisite testleri de yapılarak canlı üzerindeki etkinlikleri çalışılmalıdır.
- Yapılan çalışmalar sonunda elde edilen veriler sadece in vitro değil aynı zamanda da in vivo olarak da denemelidir. Yem katkı maddesi olarak verilmesi durumunda barsak içerisinde bulunan probiyotik canlılar ve prebiyotik maddeler üzerindeki etkinlikleri de ayrıca incelenebilecek konular arasında yer almaktadır.

Sonuç olarak ülkemizde bir çok alanda doğal olarak bulunan ve farklı tedavi yöntemleri ile değerlendirilen bu bitkinin tıbbi aromatik bitkiler çerçevesinde değerlendirilerek alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi olumlu sonuçlar doğuracağı düşüncesine sahip bulunmaktayız.



KAYNAKLAR

- Abd El-Naby, A. S., Al-Sagheer, A. A., Negm, S. S., & Naiel, M. A. (2020). Dietary combination of chitosan nanoparticle and thymol affects feed utilization, digestive enzymes, antioxidant status, and intestinal morphology of *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, 515, 734577.
- Aksoy, A., Alazragi, R., Alabdali, A. Y., Aljazzar, R., El Sadi, S., Alostaz, M., & El Hindi, M. (2023). Antibacterial activity of metallic-core gold and silver nanoparticles against some animal pathogens. *Annals of Animal Science*.
- Abdu, U. R. I., Yehezkel, G. and Sagi, A., 2000. Oocyte development and polypeptide dynamics during ovarian maturation in the red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Invertebrate Reproduction & Development*, 37(1), 75-83.
- Ateş, D. A., & Turgay, Ö. (2003). Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts. *Turkish Journal of Biology*, 27(3), 157-162.
- Bhatia, N., Kumari, A., Chauhan, N., Thakur, N., & Sharma, R. (2023). *Duchsnea indica* plant extract mediated synthesis of copper oxide nanomaterials for antimicrobial activity and free-radical scavenging assay. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 47, 102574.
- Banciu, C., Mitoi, M. E., & Brezeanu, A. (2009). Biochemical peculiarity of in vitro morphogenesis under conservation strategy of *Ruscus aculatus* L. *Annals of forest research*, 109-116.
- Castro-Enríquez, D., Miranda, J. M., Trigo, M., Rodríguez-Félix, F., Aubourg, S. P., & Barros-Velázquez, J. (2023). Antioxidant and Antimicrobial Effect of Biodegradable Films Containing Pitaya (*Stenocereus thurberi*) Extracts during the Refrigerated Storage of Fish. *Antioxidants*, 12(3), 544.
- Çiçek, S., & Özoğul, F. A. T. İ. H. (2021). Effects of selenium nanoparticles on growth performance, hematological, serum biochemical parameters, and antioxidant status in fish. *Animal Feed Science and Technology*, 281, 115099.
- Daniari, T., Ramezani, M., & Pakpour, B. (2020). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of *Ruscus aculatus* L hydroalcoholic extract in male NMRI mice. *Journal of Gorgan University of Medical Sciences*, 21(4), 47-52.
- Edziri, H., Haddad, O., Saidana, D., Chouchen, S., Skhiri, F., Mastouri, M., & Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429
- El-Naggar, M., Medhat, F., & Taha, A. (2022). Applications of chitosan and chitosan nanoparticles in fish aquaculture. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 26(1).
- Güvenç, A., Şatır, E., & Coşkun, M. (2007). Determination of ruscogenin in Turkish *Ruscus* L. species by UPLC. *Chromatographia*, 66, 141-145.

- Flamini, G. (2020). *Ruscus hypophyllum* L. extracts: chemical composition, antioxidant, anticoagulant, and antimicrobial activity against a wide range of sensitive and multi-resistant bacteria. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 17063-17071
- Francis, A. L., Namasivayam, S., Bhuvaneshwari, G., & Thamayanthi, C. (2023). Effect Of Heat Treatment On Antimicrobial Activity Of Medicinal Plant Extract Against Atcc 25923 *Staphylococcus aureus*. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 14(3).
- Han, A., Hwang, J. H., & Lee, S. Y. (2023). Antimicrobial activities of Asian plant extracts against pathogenic and spoilage bacteria. *Food Science and Biotechnology*, 32(2), 229-238.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990.
- Hadžifejzović, N., Kukić-Marković, J., Petrović, S., Soković, M., Glamočlija, J., Stojković, D., & Nahrstedt, A. (2013). Bioactivity of the extracts and compounds of *Ruscus aculatus* L. and *Ruscus hypoglossum* L. *Industrial crops and products*, 49, 407-411.
- Hani, N., Baydoun, S., Nasser, H., Ulian, T., & Arnold-Apostolides, N. (2022). Ethnobotanical survey of medicinal wild plants in the Shouf Biosphere Reserve, Lebanon. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 18(1), 1-16.
- Kebeli, F. (2021). İstanbul ve çevresinde doğal yayılış gösteren *Ruscus* türlerinin kültüre alınması, çoğaltılması ve süs bitkileri sektörüne kazandırılması.
- Khojasteh, A., Sanchez-Muñoz, R., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R. M., Eibl, R., & Palazon, J. (2019). Biotechnological production of ruscogenins in plant cell and organ cultures of *Ruscus aculatus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 141, 133-141.
- Kumaran, S., Anahas, A. M. P., Prasannabalaji, N., Karthiga, M., Bharathi, S., Rajasekar, T., ... & Aruni, W. (2021). Chitin derivatives of NAG and chitosan nanoparticles from marine disposal yards and their use for economically feasible fish feed development. *Chemosphere*, 281, 130746.
- Lovato, A., & D'Antuono, L. F. (2001, November). Germination trials and domestication potential of three native species with edible sprouts: *Ruscus aculatus* L., *Tamus communis* L. and *Smilax aspera* L. In *International Symposium on Sustainable Use of Plant Biodiversity to Promote New Opportunities for Horticultural Production 598* (pp. 211-218).
- Nazemiyeh, H., Zengin, G., Mehrad, H., Farhoudi, M. ve Bahadori, M.B. (2020). LC-MS/MS-based steroidal saponins profiling and biological activities of *Ruscus hyrcanus* woronow. *European Journal Of Integative Medicine*, 101245.
- Pandey, A. K., & Kasana, S. (2021). *Plant Systematics*. CRC Press.
- Pivovarovoff, A., Sharifi, R., Sack, L., & Rundel, P. W. (2010, August). COS 114-9: Best of both worlds: Gas exchange and hydraulics of shade and drought tolerant species *Ruscus aculatus* and *R. microglossum* (Ruscaceae). In *The 95th ESA Annual Meeting*.

- Rios, J. L., & Recio, M. C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84.
- Rodrigues, J. P., Fernandes, Â., Dias, M. I., Pereira, C., Pires, T. C., Calhelha, R. C., ... & Barros, L. (2021). Phenolic compounds and bioactive properties of *Ruscus aculatus* L.(Asparagaceae): The pharmacological potential of an underexploited subshrub. *Molecules*, 26(7), 1882.
- Sharma, K., Kaur, R., Kumar, S., Saini, R. K., Sharma, S., Pawde, S. V., & Kumar, V. (2023). Saponins: A concise review on food related aspects, applications and health implications. *Food Chemistry Advances*, 100191.
- Tagida, M., Nilsuwan, K., Gulzar, S., Prodpran, T., & Benjakul, S. (2023). Fish gelatin/chitosan blend films incorporated with betel (*Piper betle* L.) leaf ethanolic extracts: Characteristics, antioxidant and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 137, 108316.
- Thangapandiyar, S., & Monika, S. (2020). Geen synthesized zinc oxide nanoparticles as feed additives to improve growth, biochemical, and hematological parameters in freshwater fish *Labeo rohita*. *Biological trace element research*, 195, 636-647.
- Thomas, P. A., & Mukassabi, T. A. (2014). Biological flora of the British Isles: *Ruscus aculatus*. *Journal of ecology*, 102(4), 1083-1100.
- Taşkın, T., Güler, E., Şahin, T., & Bulut, G. (2020). Enzyme Inhibitory and Antioxidant Activities of Different Extracts from *Ruscus aculatus* L. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, 58(4).
- Zazharskyi, V. V., Davydenko, P., Kulishenko, O., Borovik, I. V., & Brygadyrenko, V. V. (2019). Antimicrobial activity of 50 plant extracts. *Biosystems Diversity*, 27(2), 163-169.



ÖZGEÇMİŞ

Hasibullah BİKZAD. İlk, orta ve lise eğitimini Takhar'da tamamladı. 2012 yılında Takhar Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde başladı. Lisans eğitimini 2015 tamamladı. 2021 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomi Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2022 yılında Tarım Ekonomi Anabilim Dalı'nda Su Ürünleri Yetiştiricilik Anabilim Dalı'nda yatay geçiş yapmıştır.

